

# ANALECTA VETERINARIA



Publicación de la  
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

*Volumen 27 n° 1 año 2007*





FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

# ANALECTA VETERINARIA

ANALECTA VETERINARIA vol. 27 n° 1, 2007

Publicación de la  
Facultad de Ciencias Veterinarias  
Universidad Nacional de La Plata

## Autoridades

### Decano

Dr. Edgardo Nosetto

### Vicedecano

Bac. Reinaldo Fonrouge

### Secretario Académico

Dra. Sara Williams

### Secretario de Postgrado

Dr. Eduardo Mórtola

### Secretario de Extensión Universitaria

Méd.Vet. Eduardo R. Pons

### Secretario de Ciencia y Técnica

Dra. Cecilia Galosi

### Secretario de Asuntos Estudiantiles

Méd.Vet. Fernando Marino

### Secretaria de Gestión de Calidad

Dra. María Gabriela Echeverría

## ANALECTA VETERINARIA

### Director

Dr. Nestor Oscar Stanchi

### Editor Responsable

Dr. Eduardo Marotta

### Secretario de Redacción

Méd. Vet. Daniel O. Arias

### Comité Editorial

#### (Facultad de Ciencias Veterinarias)

Dra. Liliana Lagrecca

Dr. Eduardo Gimeno

Bact. Carlos Gómez

Dr. Florestán Maliandi

Méd.Vet. Enrique Pennimpe

Dra. Pilar Peral García

Dr. Carlos Perfumo

Clasificada nivel 1 (superior de excelencia) por  
CAICYT-CONICET

### Evaluadores de trabajos de Analecta Veterinaria:

G. Antúnez Sánchez (Cuba), L Basso (Argentina), HA Brusco (Argentina), F Capano (Uruguay), A Conigliaro (Argentina), L Estol (Argentina), J Idiart (Argentina), RA Fernández (Argentina), J Lasta (Argentina), A Fernández Alosa (Brasil), H Tersolo (Argentina), J Zorzópulos (Argentina), E Gimeno (Argentina), C Schenk (Argentina), E Coppos (Argentina), LM Friche Passos (Brasil), JM Gutiérrez (Costa Rica), R Cacchione (Argentina), F Cortés Benavides (España), M Carballo (España), RM Dauder (España), R de Torres (Argentina), P Ostrosky-wegman (España), J Surralles Calonge (España), N Auza (Argentina), M Barrandeguy (Argentina), M Carballo (Argentina), JA Coppo (Argentina), C Corbellini (Argentina), F Costa (Argentina), C Eddi (Argentina), A Fosatti (Argentina), E Gentilini (Argentina), N Gómez (Argentina), S Gómez Cabrera (Argentina), C Gómez Dumm (Argentina), J González Tomé (Argentina), G. González (Argentina), A Guglielmone (Argentina), I von Landzewitsch (Argentina), N Leardini (Argentina), L León Vizcaino (España), C Lerena (Argentina), JC Lorente (Argentina), M Mariano (Argentina), H Molinuevo (Argentina), M Monina (Argentina), E Moras (Argentina), SJ de Oliveira (Brasil), A Parma (Argentina), J Pereira (Argentina), J Pistani (Argentina), B Ruksan (Argentina), B Rutter (Argentina), E Smitsaart (Argentina), J Troiano (Argentina), C Carfagnini (Argentina), J de Filippo (Argentina), C Machado (Argentina), I Sommerfelt (Argentina), P Soto (Argentina), E.Romero (Argentina), R Alberio (Argentina), A Soraci (Argentina).

La revista ANALECTA VETERINARIA es una publicación semestral de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata, Argentina. Está destinada a la difusión de trabajos científicos en el campo de las Ciencias Veterinarias, generados en esta Unidad Académica y en otras instituciones. Asimismo, reflejará las actividades académicas de postgrado y de extensión que se desarrollan en esta Casa de Estudio.

The Journal ANALECTA VETERINARIA is a biannual publication of the College of Veterinary Sciences of the National University of La Plata, Argentina. It is dedicated to the diffusion of scientific reports in the field of the Veterinary Sciences, generated in this and in other institutions. Also, it will reflect the academic activities of graduate school and of extension that they are developed in this College.

ISSN 0365514-8 Versión Impresa

ISSN 1514-2590 Versión Electrónica

<http://www.fcv.unlp.edu.ar/analecta/analecta.html>

ISSN 1666295-4 Versión CD-ROM

Registro Propiedad Intelectual 77383

**Dirección postal:** CC 296 (B1900AVW)

La Plata, Buenos Aires, ARGENTINA

Las opiniones expresadas por los autores que contribuyen a esta revista no reflejan necesariamente las opiniones de este medio, ni de las entidades que la auspician o de las instituciones a que pertenecen los autores.

Queda prohibida la reproducción total o parcial por cualquier metodología del material impreso en esta revista sin el consentimiento expreso del Editor. Está autorizada la reproducción con fines académicos o docentes mencionando la fuente. El uso de nombres comerciales está destinado únicamente para la identificación y no implica el respaldo directo o indirecto de los Ministerios de la Nación Argentina ni de los países respectivos de donde provengan los trabajos. Tampoco se garantizan ni respaldan los productos promocionados en los avisos de publicidad.

### **Acceso Electrónico a ANALECTA VETERINARIA**

Si tiene acceso a INTERNET, puede recuperar la revista electrónicamente y en forma gratuita accediendo a la página en la Web

[www.fcv.unlp.edu.ar/analecta/analecta.html](http://www.fcv.unlp.edu.ar/analecta/analecta.html)

Los números de la revista a partir del Volumen 18 están disponibles en formato de archivo: pdf (Portable Document File-Adobe Acrobat Reader®) y pueden imprimirse en cualquier impresora que permita diferenciar escala de grises o colores. Se recomienda que la misma posea un resolución mínima de 600 x 600 dpi.

Para más información sobre cómo recibir ANALECTA VETERINARIA electrónicamente, enviar un e-mail a la dirección: [analecta@fcv.unlp.edu.ar](mailto:analecta@fcv.unlp.edu.ar)

### **Revisión de estilo: Per. Eleonora Rolleri**

#### **Diseño**

Prof.Dr. Nestor Oscar Stanchi

#### **Diseño de Tapa**

Andrea López Osornio (DCV)

ANALECTA VETERINARIA está indizada en el Índice Latinoamericano de Revistas Científicas LATINDEX

([www.latindex.unam.mx](http://www.latindex.unam.mx)),

Ulrich's International Periodicals Directory

([www.ulrichsweb.com](http://www.ulrichsweb.com))

Zoological Records

([www.biosis.org.uk/products\\_services/zrss.html](http://www.biosis.org.uk/products_services/zrss.html))

BIOSIS (<http://www.biosis.org>)

Infocyt <http://www.redhucyt.oas.org/infocyt/>

Se solicita canje - On demande l'échange - We ask for exchange - Si prega lo scambio  
Man bitter um austausch - Pedese permuta - Oni petas intersangon

**Citación de la versión electrónica:** La citación de los artículos aparecidos en la versión electrónica de ANALECTA VETERINARIA (VE) debería seguirse según el siguiente ejemplo:

Costa E.F. y col. Alteraciones en la diferenciación y proliferación celular cutánea en bovinos, inducidas por Hipervitaminosis D de origen vegetal. *Analecta vet* (VE) 1998; 18,1/2: 7-13 (7 pantallas). Recuperable de [www.fcv.unlp.edu.ar](http://www.fcv.unlp.edu.ar)

**Citación de la versión CD-ROM:** La citación de los artículos aparecidos en la versión en CD-ROM de ANALECTA VETERINARIA (CD-ROM) debería seguirse según el siguiente ejemplo:

Tittarelli C.M. y col. Efecto de las lluvias sobre la composición mineral de gramíneas y *Lotus glaber mill* del partido de Magdalena. *Analecta vet* (CD-ROM) 2001; 21, 1: 54-57 (4 pantallas).

### **Impresión**

#### **ANALECTA**

**Pronunciación:** «a-n&l-'ek-t&

**Etimología:** LatinModerno *analecta*, del Griego *analekta*, plural neutro de *analektos*, verbo de *analegein* recolectar, de *ana-* + *legein* reunir: selección miscellanea de pasajes escritos, cartas.



**Foto de tapa:** Facultad de Veterinaria (Laboratorio de Microbiología general). Principios de siglo XX.

### **Todos los trabajos publicados en ANALECTA VETERINARIA son sometidos a revisores externos.**

El Editor se reserva el derecho de editar los artículos para clarificarlos y modificarles el formato para adecuarlos al estilo de ANALECTA VETERINARIA.

### **All articles published in ANALECTA VETERINARIA are submitted to external scientific reviewers.**

The Editor reserves the right to edit articles for clarity and to modify the format to fit the publication style of ANALECTA VETERINARIA

### **Impreso en papel libre de ácido**

Printed in acid-free paper

Impreso en Argentina

Printed in Argentina



## Artículos de Investigación Research articles

**METÁSTASIS Y ANGIOGÉNESIS EN CARCINOMAS MAMARIOS INVASIVOS DE PERRAS DIAGNOSTICADOS ENTRE 1980 Y 2003. ESTUDIOS HISTOLÓGICO E INMUNOHISTOQUÍMICO.** Metastasis and angiogenesis in canine invasive mammary carcinomas diagnosed between 1980 and 2003. Histologic and immunohistochemical studies. ME Diessler, JR Idiart, EL Portiansky **5-10**

**TAMAÑO Y ESTRUCTURA DE LA POBLACIÓN CANINA EN SAN MARTÍN DE LOS ANDES (NEUQUÉN).** Size and structure of the dog population in San Martín de los Andes (Neuquén). Brusoni C, Dezzotti A, Fernández Canigia J, Lara J **11-23**

**MEDICIÓN ULTRASONOGRÁFICA DE ESTRUCTURAS MATERNAS Y FETALES PARA LA ESTIMACIÓN DE EDAD GESTACIONAL EN CANINOS.** Ultrasound measurements of maternal and fetal structures for estimation of gestational age in dogs. Rodríguez R, Tortora M, Blanco P, Pons E, Rube A, Corrada Y, Gobello C, Arias D. **24-29**

## Comunicaciones breves Short communications

**EVALUACIÓN DE UN SISTEMA DE AISLADORES FLEXIBLES PARA EL MANTENIMIENTO DE RATONES INMUNODEFICIENTES.** Validation and assessment of a flexible film isolator system for the maintenance of immunodeficient mice. F Maschi, G Principi, S Milocco, JM Laborde, M Carriquiriborde, M Ayala, P Cagliada, Carbone C. **30-35**

## Revisiones Review

**MACRÓLIDOS: NOVEDADES DE UN CLÁSICO GRUPO DE ANTIMICROBIANOS**  
Macrolides: news about a classic group of antimicrobials. MF Lucas, N Mestorino, JO Errecalde **36-45**



## METÁSTASIS Y ANGIOGÉNESIS EN CARCINOMAS MAMARIOS INVASIVOS DE PERRAS DIAGNOSTICADOS ENTRE 1980 Y 2003. ESTUDIOS HISTOLÓGICO E INMUNOHISTOQUÍMICO

ME Diessler<sup>1</sup>, JR Idiart<sup>1</sup>, EL Portiansky<sup>2</sup>

1. Cátedra de Patología Especial, 2. Laboratorio de Análisis de Imágenes. Instituto de Patología Dr. B. Epstein. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata.

**Resumen:** Algunos parámetros de valor pronóstico para los carcinomas mamarios son el tipo y el grado histológicos (TH y GH), la presencia de émbolos neoplásicos peritumorales (ENP) y el estado de los linfonódulos. Se estudiaron los 121 carcinomas mamarios remitidos con linfonódulos al Instituto de Patología desde 1980 mediante coloración de rutina e inmunomarcación para relacionar dichos parámetros. En una gran proporción de linfonódulos (LN) originalmente clasificados como negativos (32,7 %) se encontraron micrometástasis mediante nuevos cortes e inmunomarcación. Se realizó un estudio inmunohistoquímico preliminar comparativo de la actividad angiogénica entre carcinomas con y sin metástasis y se hallaron diferencias significativas entre ambos grupos. En ausencia de ENP, el TH determinó el pronóstico en mayor medida que el GH. En presencia de émbolos, el GH tuvo relevancia para el pronóstico. Es importante conocer en qué medida las particularidades tisulares y celulares de la neoplasia pueden ser de utilidad para el pronóstico de la enfermedad.

**Palabras claves:** caninos, carcinomas mamarios, angiogénesis, metástasis, pronóstico

## METASTASIS AND ANGIOGENESIS IN CANINE INVASIVE MAMMARY CARCINOMAS DIAGNOSED BETWEEN 1980 AND 2003. HISTOLOGIC AND IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDIES

**Abstract:** Some prognostic factors for canine mammary carcinoma are: histologic type and grade, invasion of the perivascularity and lymph node state. Mammary carcinomas submitted with their lymph nodes since 1980 (121) were revised and immunohistochemically labelled. In a high proportion of negative lymph nodes (32.7 %) micrometastasis were found out by way of histopathologic revision and immunolabelling. A preliminary approach to the relation between angiogenic activity and metastasis was performed, with positive related results. In the studied samples, lacking peritumoral emboli, tumor type was prognostic in a greater extent than histologic grade. In a simple carcinoma, this factor was more relevant to predict probability of vascular peritumoral invasion than the subtype. When peritumoral emboli were found, different grades made distinct probability of lymph node metastasis development. It is worth to know how useful may tissue and cellular characteristics of the tumor be in the prognosis of this entity.

**Key words:** canine, mammary carcinomas, angiogenesis, metastasis, prognosis

Fecha de recepción: 10/09/06

Fecha de aprobación: 28/05/07

**Dirección para correspondencia:** Monica Diessler. Instituto de Patología Dr. B. Epstein. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. CC 296. La Plata (B 1900 A V W). República Argentina. Fax: 54-221-425-7980.

**E-mail:** diessler@fvc.unlp.edu.ar

## INTRODUCCIÓN

En Argentina, la enfermedad neoplásica es la primera causa de muerte de los perros gerontes y, particularmente, los tumores mamarios constituyen un problema muy frecuente. En las perras los carcinomas mamarios (CM) constituyen el tipo más frecuente de neoplasia, representando más del 50 % del total (1). En otros países se han informado porcentajes menores de carcinomas malignos. Los carcinomas simples, particularmente los tubulares, son los más frecuentes, mientras que los carcinosarcomas son raros (2). Aunque se han realizado numerosos intentos para desarrollar métodos bioquímicos, radiográficos e inmunológicos para el diagnóstico de la enfermedad neoplásica, el único procedimiento confiable y aceptable es el examen microscópico de tejidos y células.

Algunas de las características histológicas de la neoplasia de interés para el pronóstico son: el tipo histológico (TH), el grado histológico (GH) y la presencia de émbolos neoplásicos peritumorales (ENP) (3, 4). Con respecto al TH, los carcinomas complejos (de origen epitelial y mioepitelial) tienen mejor pronóstico que aquellos simples (epiteliales) y mixtos (de origen epitelial y conjuntivo). Aquellos más indiferenciados (sólidos *vs.* tubulares) originan metástasis con mayor frecuencia (5). En medicina humana se ha informado que, en casos con linfonódulos negativos (LN -), las pacientes con neoplasias con ENP tienen menor sobrevida (4).

Además, la estimación de ciertas actividades celulares asociadas con el fenotipo invasivo, como la angiogénesis, aporta conocimientos básicos acerca de los patrones de comportamiento de estas neoplasias (6, 7). Adicionalmente a la importancia pronóstica de las estimaciones de la angiogénesis, los resultados de tales estudios pueden aportar más datos de utilidad para el uso racional de la terapia antiangiogénica.

La importancia de los factores de crecimiento de los endotelios vasculares (*VEGF*) y sus receptores (*VEGFRs*) en la regulación de la angiogénesis, crecimiento y progresión de diversos tumores ha sido verificada (6, 8).

Los CM invasivos desarrollan frecuentemente metástasis en los LN regionales (axilares e inguinales) y luego en los pulmones (9). El compromiso del linfonódulo regional es una variable independiente relevante en el progreso de la enfermedad tumoral. Asimismo, es uno de los principales parámetros que determinan la indicación de tratamiento médico en los pacientes humanos. La tinción histológica de rutina (HyE) no siempre permite la detección de metástasis microscópicas incipientes. Por el contrario, las técnicas de inmunohistoquímica (IHQ) han demostrado una gran sensibilidad para el reconocimiento de micrometástasis ocultas (MMO). Los marcadores de mayor

importancia a tal efecto son los anticuerpos para la detección de citoqueratinas. Éstas forman filamentos intermedios característicos de las células epiteliales normales y se conservan luego de la transformación neoplásica (10, 11).

Los objetivos de este trabajo fueron: establecer la relación entre el tipo histológico, el grado histológico y los émbolos neoplásicos peritumorales entre sí y con el hallazgo de micrometástasis evidentes u ocultas en los linfonódulos regionales y la relación entre la actividad angiogénica (estimada por un receptor de *VEGF*) y el estado de los linfonódulos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se recopilaron los carcinomas mamarios invasivos remitidos con LN a partir del archivo del Instituto de Patología Dr. B. Epstein desde 1980. Se estudió cada caso consignando los siguientes parámetros: TH, GH y presencia de ENP. Los tipos histológicos asignados fueron: carcinomas complejos, carcinomas simples (tubulares, papilares, sólidos y anaplásicos), carcinoma mixtos y tipos especiales de carcinoma (carcinoma de células escamosas -CCE- mamario, carcinoma mucinoso, carcinoma rico en lípidos y carcinoma de tipo fusiforme) siguiendo la clasificación vigente de la Organización Mundial de la Salud (5). Los grados histológicos (I, II y III) se asignaron elaborando un *score* conforme a los siguientes parámetros: formación de túbulos, figuras mitóticas e hiper cromasia nuclear y regularidad en el tamaño y la forma de los núcleos, de manera que se consideró de grado I al más diferenciado o menos maligno. Los resultados de la observación de los LN se expresaron en términos de LN+ (presencia de células carcinomatosas) o LN- (ausencia de células carcinomatosas). Se realizaron cuatro nuevos cortes de los LN sin células carcinomatosas visibles, con una separación de 100 micras entre cada uno. Para cada caso con estas características, tres cortes se colorearon con HE y uno se reservó para inmunohistoquímica, colocado sobre portaobjetos con cargas positivas. Las micrometástasis ocultas fueron inmunomarcadas con un anticuerpo anti-citoqueratinas (AE1-AE3, N1590, *DakoCytomation*) utilizando la técnica indirecta de la peroxidasa, sistema de detección y revelado *LSAB2* (*LSAB2 System HRP, DakoCytomation*) y hematoxilina de Gil como coloración de contraste.

Además, se realizó un estudio preliminar de la actividad angiogénica (estimada por un receptor de *VEGF*) de los carcinomas mamarios, la que se relacionó con el estado de los linfonódulos. Para ese propósito se seleccionaron veinte carcinomas, diez con LN+ y diez con LN- (independientemente de su tipo o grado) y se inmunomarcaron con el anticuerpo anti-*VEGF2r* (Flk-1, (A-3): sc-6251, *Santa Cruz Biotechnology*)

mediante el mismo procedimiento. De cada una de las muestras se analizaron veinte campos (Objetivo 40X) mediante el uso de una cámara digital (EvolutionVF, Qimaging) montada sobre un microscopio (Olympus BX50) y conectada a una computadora. Las imágenes tuvieron una resolución de 640x480 px, RGB y formato TIF, con una relación de 0,32  $\mu\text{m}/\text{px}$ . Mediante el programa de análisis *ImagePro Plus*, v6.0 (Media Cybernetics) se midieron los siguientes parámetros en los veinte campos de cada imagen: densidad óptica promedio (DO), porcentaje de área inmunomarcada (AIM), área sobre  $\text{mm}^2$  (área/ $\text{mm}^2$ ) y densidad óptica integrada (DOI).

Se realizaron las pruebas estadísticas de chi-cuadrado (simple y estratificado) y de Fisher para las variables cualitativas, con las correcciones correspondientes para las celdas con  $n$  bajos (Epinfo versión 6 Statcalc). Se utilizó la prueba de  $t$  de Student para comparar los dos grupos de neoplasias (LN+ y LN-) inmunomarcadas con anti-*VEGF2r*. Para todos los análisis estadísticos el intervalo de confianza fue de 95%.

## RESULTADOS

De 876 casos de neoplasias mamarias en el periodo en estudio (770 malignas, 750 carcinomas) se hallaron 121 carcinomas mamarios invasivos remitidos con LN (13,81%). Las particularidades histológicas de dichas neoplasias se muestran en la tabla 1. De ellos, 59 eran simples (Fig. 1A), 25 complejos, 33 mixtos y 4 CCE. No se hallaron otros tipos de especiales de carcinoma. En 36 carcinomas se observaron émbolos neoplásicos peritumorales. Se encontraron metástasis en los LN correspondientes a 69 de las neoplasias (Fig. 1B). Diecisiete de los carcinomas fueron de GH-I, 38 de GH-II y 66 de GH-III.

Según los informes originales, los linfonódulos correspondientes a 77 de los 121 tumores eran negativos. La revisión de los nuevos cortes coloreados con HE permitió establecer que once de ellos eran "falsos negativos". Mediante la inmunomarcación se detectaron 14 nuevos "falsos negativos" entre los 66 restantes (Fig. 2). En resumen, estos procedimientos permitieron hallar metástasis no diagnosticadas en el 32,7 % de los LN originalmente negativos.

Comparando los parámetros de a pares y combinando criterios se hallaron diferencias de marcada significación estadística con respecto al hallazgo de metástasis en el LN entre neoplasias con y sin émbolos tumorales ( $p=0,0000002$ ) y entre neoplasias de los tres distintos grados histológicos ( $p=0,00001$ ). Se constataron diferencias entre carcinomas simples de todos los grados ( $p=0,0036$ , pero no particularmente entre los carcinomas simples de grado II y III) y entre neoplasias de grado II y III, sin considerar el TH ( $p=0,006$ ). Las diferencias fueron también

significativas entre los tipos histológicos ( $p=0,01$ ) y entre carcinomas simples y mixtos, ambos sin émbolos ( $p=0,03$ ).

En referencia al hallazgo de émbolos peritumorales, las mayores diferencias entre grupos correspondieron a los distintos tipos histológicos (pero no las hubo particularmente entre los tipos simple y mixto, ni entre los subtipos de carcinomas simples) y entre carcinomas simples de diferente grado.

Al analizar el grupo de neoplasias con émbolos, se encontraron diferencias referidas al estado del LN entre los distintos grados histológicos.

Los resultados en el resto de las comparaciones de parámetros histológicos, no detallados en este apartado, arrojaron una probabilidad igual o mayor a 0,05, por lo que se atribuyen al azar o a un  $n$  insuficiente.

La inmunomarcación con anti-*VEGF2r* se observó en el citoplasma de las células carcinomatosas, mesenquimáticas y endoteliales (Fig. 3). Los resultados se muestran en la tabla 2. El análisis comparativo de la densidad óptica integrada entre casos con y sin metástasis mediante la prueba de  $t$  arrojó un resultado igual a 1,88, al que le corresponde un valor de  $p=0,05 < 0,025$  (baja proporción de azar).

## DISCUSIÓN

En nuestro medio, el número de carcinomas en relación con el total de neoplasias mamarias es mucho mayor que aquel referido en la bibliografía (con una proporción de neoplasias mixtas mayor que el citado por autores extranjeros), de manera que cabe resaltar la importancia de remitir para análisis histopatológico aun los nódulos de aspecto benigno.

De los resultados obtenidos se desprende, además, que actualmente los linfonódulos regionales son remitidos para su análisis en una proporción muy baja de los casos. Por lo tanto, es importante conocer en qué medida las particularidades tisulares y las actividades celulares de la neoplasia pueden ser de utilidad pronóstica. La predicción del curso de la enfermedad cobra importancia para el patólogo dada la creciente demanda por parte de colegas y propietarios de información al respecto.

Los nuevos cortes de linfonódulos y la inmunomarcación permitieron hallar metástasis no diagnosticadas previamente en muchos de los LN originalmente clasificados como negativos. Este hecho permite subrayar la importancia de la revisión de múltiples cortes de linfonódulos o la implementación de técnicas complementarias al diagnóstico histopatológico para la correcta estadificación de la enfermedad neoplásica.

Para el número de muestras estudiadas se determinó, coincidentemente con los datos de la



**M. Diessler y col.**

Tabla 1. Parámetros histológicos estudiados en los carcinomas mamarios invasivos y sus linfonodos

Table 1. Histologic features studied in mammary carcinomas and their lymph nodes.

Nº	TH	GH	EP	LN	Nº	TH	GH	EP	LN
1	CC	II	NO	+	51	Cs papilar	III	NO	+
2	Cs papilar	II	NO	+(RH)	52	CS	III	SÍ	+
3	Cs tubular	I	NO	-	53	CS	III	SÍ	-
4	Cs papilar	II	NO	+	54	Cs anaplásico	III	NO	NO -
5	Cs papilar	II	NO	-	55	Cs papilar	II	NO	+
6	Cs papilar	III	SÍ	+(IHQ)	56	Cs papilar	II	NO	+(IHQ)
7	CS	III	SÍ	+	57	CS	III	NO	+
8	CC	I	NO	-	58	cce	III	NO	+
9	CC	II	NO	+(IHQ)	59	CS	III	NO	-
10	CS	III	SÍ	+	60	Cs papilar	II	NO	+
11	CC	I	NO	-	61	Cs papilar	III	SÍ	+
12	Cs anaplásico	III	SÍ	+	62	Cs papilar	II	NO	-
13	Cs sólido	III	NO	-	63	Cs tubular	I	NO	-
14	Cs sólido	III	SÍ	+	64	Cs papilar	II	NO	-
15	Cs sólido	III	SÍ	+(RH)	65	CS	III	NO	+
16	Cs anaplásico	III	SÍ	+(RH)	66	Cs papilar	II	NO	-
17	Cs papilar	II	NO	+	67	Cs anaplásico	III	SÍ	+
18	Cs sólido	III	SÍ	+	68	CS	III	SÍ	+(IHQ)
19	CS	III	SÍ	+	69	Cs sólido	III	SÍ	+(IHQ)
20	Cs tubular	I	NO	-	70	cce	III	NO	-
21	CS	II	NO	+	71	CS	III	NO	+
22	Cs sólido	III	SÍ	+	72	CS	II	NO	+
23	CC	I	NO	+	73	CS	II	NO	-
24	Cs sólido	III	NO	+	74	CS	III	NO	+
25	CS	II	NO	-	75	CS	III	SÍ	+
26	CC	II	NO	+(IHQ)	76	CC	I	NO	-
27	CC	I	NO	-	77	CC	II	NO	-
28	CS	III	NO	+(IHQ)	78	Cs papilar	II	NO	+(RH)
29	CS	III	NO	+(IHQ)	79	CS	III	NO	-
30	Cs papilar	II	NO	-	80	Cs sólido	III	NO	+(IHQ)
31	CC	II	NO	+(IHQ)	81	CC	I	NO	-
32	CC	II	NO	-	82	Cs sólido	III	NO	-
33	Cs papilar	III	SÍ	-	83	CC	II	NO	-
34	Cs papilar	II	NO	-	84	CC	II	NO	-
35	Cs papilar	III	SÍ	+	85	CS	III	NO	+(RH)
36	Cs papilar	III	SÍ	+(RH)	86	CS	III	NO	+(RH)
37	CC	II	NO	-	87	Cs sólido	III	NO	-
38	Cs sólido	III	NO	-	88	Cs sólido	III	NO	-
39	CS	II	NO	+	89	CS	III	NO	+
40	CS	III	SÍ	+	90	cce	II	NO	-
41	CS	III	SÍ	+	91	cce	III	NO	-
42	CS	II	NO	+	92	CS	III	SÍ	+
43	CC	I	NO	-	93	CS	III	SÍ	+
44	CC	I	NO	-	94	Cs sólido	III	SÍ	+(IHQ)
45	Cs papilar	II	SÍ	+	95	CS	III	NO	+
46	CS	III	NO	-	96	Cs sólido	III	SÍ	+(RH)
47	CS	III	NO	+(IHQ)	97	Cs sólido	III	SÍ	+
48	CC	I	NO	-	98	Cs sólido	III	NO	-
49	Cs tubular	I	NO	-	99	CC	I	NO	-
50	Cs papilar	II	NO	+	100	Cs papilar	III	SÍ	+(RH)

TH: tipo histológico, GH: grado histológico, EP: émbolos peritumorales, LN: estado del linfonódulo, CC: carcinoma complejo, Cs: carcinoma simple, CS: carcinosarcoma, +: presencia de metástasis, + (RH): hallazgo de metástasis mediante revisión histopatológica, + (IHQ): hallazgo de metástasis mediante técnicas inmunohistoquímicas.

Tabla 1. continuación

101	Cs papilar	III	SÍ	+	111	CC	II	NO	-
102	Cs anaplásico	III	SÍ	+	112	Cs papilar	III	NO	-
103	CS	III	NO	-	113	Cs papilar	III	NO	+(IHQ)
104	CC	II	NO	-	114	CC	II	NO	+(RH)
105	Cs papilar	III	SÍ	+(RH)	115	CC	II	NO	-
106	Cs papilar	II	NO	+	116	CS	III	SÍ	+
107	Cs papilar	II	NO	-	117	CC	I	NO	-
108	CC	I	NO	-	118	Cs sólido	III	SÍ	+
109	Cs papilar	II	NO	-	119	Cs tubular	I	NO	-
110	Cs sólido	III	NO	-	120	Cs sólido	III	SÍ	+
					121	Cs papilar	III	SÍ	+(RH)

TH: tipo histológico, GH: grado histológico, EP: émbolos peritumorales, LN: estado del linfonódulo, CC: carcinoma complejo, Cs: carcinoma simple, CS: carcinosarcoma, Cce: carcinoma de células escamosas, +: presencia de metástasis, +(RH): hallazgo de metástasis mediante revisión histopatológica, +(IHQ): hallazgo de metástasis mediante técnicas inmunohistoquímicas.

Tabla 2. Resultados del análisis de las imágenes obtenidas a partir de los cortes de carcinomas mamarios inmunomarcados con el receptor para el factor de crecimiento de endotelios vasculares-2.  
Table 2. Image analysis results from vascular endothelial growth factor receptor-2 immunolabelled specimens of mammary carcinomas.

Casos seleccionados de neoplasias con metástasis en el linfonódulo				Casos seleccionados de neoplasias sin metástasis en el linfonódulo			
DO	AIM	AREA/mm <sup>2</sup>	DOI	DO	AIM	AREA/mm <sup>2</sup>	DOI
10,06	12	12055	723,3	10,08	8,5	40789	3263,1
20,08	28,6	103712	8296,9	20,08	5,9	70875	5670
30,08	21,8	617661	49412,8	30,085	0,4	179445	15252,8
40,06	42,5	285802	17148,1	40,06	3,4	85239	5114,3
50,06	27,7	110414	6624,8	50,08	5,8	59709	4776,7
60,06	46	218328	13099,6	60,05	28	4143	207,1
70,03	58	425398	12761,9	70,06	25,6	57577	3454,6
80,06	10	276733	16603,9	80,107	4	283134	30295,3
90,08	61,7	460941	36875,2	90,07	7	256385	17946,9
100,06	11,4	582845	34970,7	100,06	18	34868	2092
<b>x0,06</b>	31,9	309388,9	<b>19651,7</b>	<b>x0,07</b>	10,6	107216,4	<b>8807,3</b>
<b>DS0,014</b>	19,1	207217,6	15563,2	<b>DS0,016</b>	9,6	97303	9457,4

Análisis de DOI: prueba de  $t = 1,88$ ,  $P = 0,05 < 0,025$

DO: densidad óptica, AIM: area inmunomarcada, DOI: densidad óptica integrada, X: media aritmética, DS: desvío *standard* de la media.

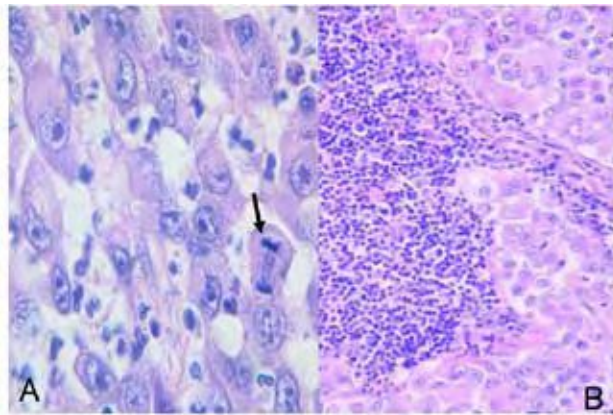
bibliografía de referencia, que el hallazgo o no de émbolos neoplásicos peritumorales origina marcadas diferencias en el estado de los LN.

En presencia de émbolos, el TH no fue relevante para predecir la metástasis en el LN, pero sí lo fue el grado. En ausencia de ENP, el tipo histológico determinó el pronóstico en mayor medida que el grado. Existe una duda razonable con respecto a la validez de esta conclusión, debido a que la probabilidad de que las diferencias fueran debidas al azar es de 0,03, bastante cercana al límite de significación.

Fue igualmente probable encontrar ENP en un carcinoma mixto y en uno simple. Para determinar la probabilidad de que en un carcinoma simple hubieran ENP no detectados, el grado

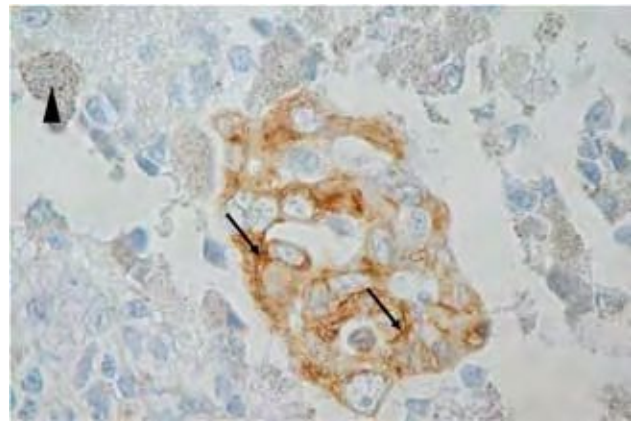
histológico tuvo mayor relevancia que el subtipo de carcinoma simple observado.

La mayor expresión del receptor flk-1 en el grupo de carcinomas que produjeron metástasis permite suponer mayor actividad angiogénica en dicho grupo. Se trata de una estimación parcial de neoangiogénesis tumoral que deberá ser complementada con otras (por ejemplo, determinación de la densidad de microvasos) y extendida a mayor cantidad de series de neoplasias. De esta manera sería posible obtener resultados de mayor validez y generalizar conclusiones que luego podrían particularizarse en cada caso para el pronóstico de la diseminación metastásica de la neoplasia y, por lo tanto, también de la supervivencia del paciente.



**Fig. 1. A.** Canino. Glándula mamaria. Carcinoma simple anaplásico, grado III. La flecha indica una figura mitótica. H&E. Obj. 100X. **B.** Linfonódulo. Metástasis de carcinoma mamario. H&E. Obj. 20X.

**Fig. 1. A.** Dog. Mammary gland. Grade III anaplastic simple carcinoma. The arrow points to a mitotic figure. H&E. Obj. 100X. **B.** Dog. Lymph node. Mammary carcinoma metastasis. H&E. Obj. 20X.



**Fig. 2.** Canino. Linfonódulo. Grupo de células carcinomatosas inmunomarcadas mediante un anticuerpo anticitoqueratinas (flechas). La cabeza de flecha indica hemosiderina en macrófagos. Inmunohistoquímica. LSAB, diaminobencidina. Obj. 100X.

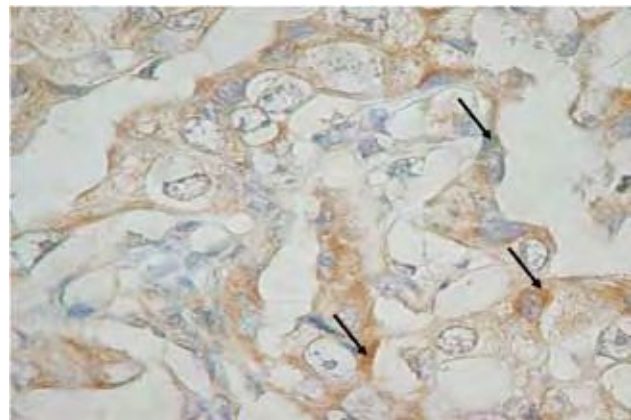
**Fig. 2.** Dog. Lymph node. Group of carcinoma cells immunolabelled with anticcytoqueratins antibody (arrows). Arrow head points to hemosiderin in macrophages. Immunohistochemistry. LSAB, diaminobencidine. Obj. 100X.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la colaboración de las Histotecnólogas Carolina Aralda y Lorena Díaz.

## BIBLIOGRAFÍA

- Castellano MC, Diessler ME. Tumores mamarios en caninos. *Selecciones Veterinarias* 2001; 9 (3):302-7.
- Sorenmo K. Canine mammary gland tumors. *Vet Clin Small Anim* 2003; 33: 573-96.
- Pérez Alenza M, Peña I, Del Castillo N, Nieto A. Factors influencing the incidence and prognosis of canine mammary tumours. *J of Small An Pract* 2000; 41: 287-91.
- Kato T, Kameoka S, Kimura T, Nishikawa T, Kobayashi M. The combination of angiogenesis and blood vessel invasion as a prognostic indicator in primary breast cancer. *Br J of Cancer* 2003; 88: 1900-8.
- Misdorp W, Else RW, Hellmén E, Lipscomb TP. Histological classification of mammary tumors of the dog and the cat. 1999, 2<sup>nd</sup> Series. Vol VII. AFIP.
- Millanta F, Silvestri G, Vaselli C, Citi S, Pisani G, Lorenzi D, Poli A. The role of vascular endothelial growth factor and its receptor Flk-1/KDR in promoting tumour angiogenesis in feline and canine mammary carcinomas: A preliminary study of autocrine and paracrine loops. *Res Vet Sci* 2006 Mar 21.
- Arora R, Joshi K, Nijhawan R, Radotra BD, Sharma SC. Angiogenesis as an independent prognostic factor in node-negative breast cancer. *Anal Quant Cytol Histol* 2002; 24 (4): 228-33.
- Ribatti D. The crucial role of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor in angiogenesis: a historical review. *Br J of Haem* 2004; 128: 303-9.



**Fig.3.** Canino. Glándula mamaria. Carcinoma simple. Células carcinomatosas que expresan el receptor del factor de crecimiento de endotelios vasculares-2 (flechas). Inmunohistoquímica. Anti flk-1, LSAB, diaminobencidina. Obj. 100X.

**Fig.3.** Dog. Mammary gland. Simple carcinoma. Carcinoma cells express the vascular endothelial growth factor 2 receptor (arrows). Immunohistochemistry. Anti flk-1, LSAB, diaminobencidine. Obj. 100X.

- Meuten DJ. *Tumors in Domestic Animals*. 4<sup>o</sup> ed, Iowa State Press, Iowa (EE. UU.), 2002; p. 575-606, 764.
- Ishida M. Detection of micrometastasis in the sentinel lymph nodes in breast cancer. *J Surgery* 2002; 131 (1 Pt 2): S211-6.
- Matos AJ, Faustino AM, Lopes C, Rutteman GR, Gartner F. Detection of lymph node micrometastases in malignant mammary tumours in dogs by cytokeratin immunostaining. *Vet Rec* 2006;158 (18): 626-30.

## TAMAÑO Y ESTRUCTURA DE LA POBLACIÓN CANINA EN SAN MARTÍN DE LOS ANDES (NEUQUÉN)

Brusoni C<sup>1</sup>, Dezzotti A<sup>2</sup>, Fernández Canigia J<sup>3</sup>, Lara J<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Subsecretaría de Salud de la Provincia de Neuquén, Zona Sanitaria IV.

<sup>2</sup>Universidad Nacional del Comahue, Asentamiento Universitario San Martín de los Andes.

<sup>3</sup>Subsecretaría de Gestión Ambiental <sup>4</sup>Dirección de Catastro  
Municipalidad de San Martín de los Andes

**RESUMEN:** El tamaño y la estructura de la población canina de San Martín de los Andes se describió utilizando información proveniente de encuestas obtenidas a través de un muestreo estratificado (9 estratos y 624 lotes) y de la selección aleatoria de entrevistados (870). Los estratos se ordenaron de acuerdo al valor fiscal de los lotes (estrato 1 = 7 \$/m<sup>2</sup>, 9 = 127 \$/m<sup>2</sup>). El tamaño de la población de perros se estimó en 5.480 y la cantidad de personas por perro en 5. La abundancia y densidad de perros tendió a aumentar en los lotes de menor valor. La edad media de los perros se estimó en 4,9 años, aumentó en los lotes de mayor valor y el 58 % de los animales tenía hasta 5 años de edad. El 21 % de los perros se desparasitaron al menos cada 4 meses y el 2,8 % de la hembras estaban castradas. La cantidad de perros independientes y no castrados fue 39 % y estaban principalmente en los lotes de menor valor (estrato 1 = 46 %, 9 = 26 %). La situación general de los perros en San Martín de los Andes es insatisfactoria según recomendaciones internacionales, y en particular, los sectores más humildes padecen la situación más desfavorable.

**Palabras clave:** demografía canina, estructura de edad, distribución espacial, perros independientes, manejo poblacional.

## SIZE AND STRUCTURE OF THE DOG POPULATION IN SAN MARTÍN DE LOS ANDES (NEUQUÉN)

**ABSTRACT:** Size and structure analysis of dog population in San Martín de los Andes was carried out through a questionnaire survey, using stratified sampling techniques (9 strata and 624 urban plots) and random informant selection (870). Strata were ordered according to treasury value of plots (stratum 1 = 7 \$/m<sup>2</sup>, 9 = 127 \$/m<sup>2</sup>). Size of dog population was estimated in 5,480 and the amount of inhabitants per dogs was five. Dog abundance and density tend to increase in plots with lower values. Dog mean age was estimated in 4.9 yr., it increased in plots exhibiting higher values, and 58 % of dogs were 5 year old or less. The 21 % of dogs received treatment against parasites every 4 months or less and 28 % of dog females were castrated. The amount of independent and castrated dogs was 39 % of total population and they were located mainly in plots exhibiting lower values (strata 1 = 46 %, 9 = 26 %). The general situation concerning dogs in San Martín de los Andes is unsatisfactory according to international recommendations, and particularly, the humble urban districts are suffering the most disadvantageous conditions.

**Key words:** dog demography, age structure, spatial structure, independent dogs, dog population management.

Fecha de recepción: 20/10/06

Fecha de aprobación: 28/05/07

---

**Dirección para correspondencia:** Alejandro Dezzotti. Asentamiento Universitario S. M. Andes  
Universidad Nacional del Comahue. Pasaje de la Paz 235. Q8370AQA San Martín de los Andes. Argentina  
**E-mail:** jefz4@smandes.com.ar

## INTRODUCCIÓN

El perro se considera entre los primeros animales domesticados por el hombre (1). Esta temprana asociación reportó indudables beneficios culturales y económicos en todas las sociedades humanas (1). Sin embargo, el perro representa también un riesgo para la salud, el bienestar y la seguridad de las personas debido a la alta capacidad de reproducción y persistencia en condiciones independientes, y a la frecuente desatención individual y pública sobre su conducta (1) (tabla 1). El perro es vector de más de 100 enfermedades humanas (e.g., hidatidosis, toxocariasis, triquinosis, difilobotriasis, tétanos, rabia) (2, 3, 4, 5). Las mordeduras de perro constituyen un problema epidemiológico que a menudo está subestimado (6, 7, 8, 9, 10, 11). El perro puede convertirse en el mamífero de tamaño intermedio más abundante que compite por recursos y preda la fauna nativa y de caza y el ganado doméstico (12).

El desarrollo de un programa de manejo canino requiere conocer, en los diferentes sectores urbanos y a lo largo del tiempo, el comportamiento, el hábitat, la situación epidemiológica y el nivel de supervisión de los perros. Esta última variable es un indicador del vínculo animal - propietario e incluye el conocimiento sobre el desplazamiento, la alimentación, la vacunación y la desparasitación del perro. Aunque en esta relación existe un continuo de situaciones, se distinguen tres categorías que tienen límites relativamente precisos (1):

a) Perro dependiente, es un perro completamente subordinado y continuamente vigilado, que está provisto en forma completa de vacunación, desparasitación, protección, refugio, comida y agua, la longevidad es relativamente alta y la tasa de reproducción es baja;

b) Perro parcialmente independiente, es un perro que está pobremente supervisado aunque pertenece a uno o varios hogares, tiene provisión de refugio, comida y agua, aunque ocasionalmente se alimenta de basura domiciliaria, se reproduce libremente a una tasa alta y representa la categoría con el mayor riesgo de transmisión de zoonosis;

c) Perro completamente independiente, es un perro que tiene nula supervisión y se alimenta en forma ocasional, se refugia en viviendas deshabitadas o en lugares naturales y el éxito reproductivo es relativamente bajo por la escasez de alimento y protección adecuada para la cría.

El objetivo general de este estudio es mejorar los programas de manejo de población canina en la ciudad de San Martín de los Andes, a través de la obtención de información demográfica que sirva para diseñar e implementar nuevas acciones, monitorear la efectividad y conocer la percepción pública acerca de esta problemática. El objetivo particular es estimar la abundancia, la edad, la proporción de sexos, el estado reproductivo y los niveles de vacunación, desparasitación y dependencia de los perros. La hipótesis de trabajo fue que estas características difieren en los diferentes sectores de la ciudad. La población de perros completamente vagabundos no se consideró explícitamente en este estudio.

## ÁREA DE ESTUDIO

San Martín de los Andes se encuentra en la Provincia de Neuquén, en un valle fluvio-glaciar en la margen del lago Lácar, a 40° 09' 32" lat. Sur y 71° 21' 02" long. Oeste y a 647 m s.n.m. Esta ciudad tiene un clima templado húmedo con una estación estival seca contrastante. La temperatura media anual es 10,8 °C y las temperaturas medias máxima y mínima son 17,2 °C (enero) y 4,4 °C (julio), respectivamente. La precipitación anual total es 1.340 mm y el 73 % precipita en invierno y otoño. La precipitación media máxima y mínima mensual son 227,6 mm (junio) y 33,4 mm (febrero), respectivamente, y la humedad relativa media anual es 72 %. Los vientos generalmente provienen del O y NO con una velocidad media de 24 km/h (todos los datos corresponden al periodo 1936 - 2002) (Carlos Weber, com. pers.).

El relieve es montañoso y está modelado por la glaciación del Pleistoceno y la actividad tectónica. Los suelos dominantes se clasifican como Andosoles, caracterizados por el alto contenido de materia orgánica, el pH levemente ácido y la alta capacidad de retención de agua

Tabla 1: Problemas directos e indirectos vinculados con los perros independientes en San Martín de los Andes.

Table 1: Direct and indirect problems associated to independent dogs in San Martín de los Andes.

- |  |
|--|
| <ul style="list-style-type: none"><li>* Transmisión de enfermedades a personas</li><li>* Ataques y mordeduras a personas</li><li>* Accidentes de tránsito</li><li>* Condiciones de insalubridad</li><li>* Disturbios sonoros por ladridos excesivos</li><li>* Ataques a ganado doméstico, animales de caza y fauna nativa</li><li>* Daños a la propiedad pública y privada ajena a la del propietario</li><li>* Problemas de convivencia</li></ul> |
|--|

(13). Fitogeográficamente, la vegetación pertenece al Distrito del Bosque Caducifolio dentro de la Provincia Subantártica. Las especies nativas arbóreas dominantes son coihue (*Nothofagus dombeyi*), raulí (*Nothofagus nervosa*), roble pellín (*Nothofagus obliqua*) y ciprés (*Austrocedrus chilensis*). Los mamíferos nativos son zorro colorado (*Lycalopex culpeus*), zorro gris (*Lycalopex gymnocercus*), gato montés (*Oncifelis geoffroyi*) y gato guigna (*Oncifelis guigna*). Las aves nativas son jilguero andino (*Sicalis aureoventris*), zorzal patagónico (*Turdus falklandii*), tordo renegrado (*Molothrus boneriensis*), tordo patagónico (*Curaeus curaeus*), tero (*Vanellus chilensis*) y águila mora (*Geranoetus melanoleucus*). Las especies exóticas de caza más abundantes son ciervo rojo (*Cervus elaphus*), jabalí (*Sus scrofa*) y liebre (*Lepus europaeus*) (14).

En 1947 San Martín de los Andes contaba con 2.366 habitantes (2,7 % de la población provincial) y en 2001 con 23.519 habitantes (5,0 % de la población provincial) (15). Este cambio representó un crecimiento exponencial a una

tasa finita igual a 4,3 % / año y un tiempo de duplicación poblacional igual a 16,6 años (16). Durante el último periodo intercensal 1992 - 2001, la ciudad creció a una tasa anual igual a 5,6 % / año. La población estimada en 2005 es 27.268 personas de acuerdo al modelo de ajuste exponencial ( $R^2 = 0,996$ ,  $n = 6$ ) (16). Los valores de crecimiento poblacional de San Martín de los Andes son extraordinariamente altos si se los compara con los estimados para la Argentina. Por ejemplo, durante el periodo 1947 - 2001 la población del país creció a una tasa finita igual a 1,6 % / año, experimentó un tiempo de duplicación igual a 44,7 años y durante el periodo intercensal 1992 - 2001 creció a una tasa igual a 1,1 % / año (16).

## MATERIALES Y MÉTODOS

El mapa oficial con la localización de los 6.014 lotes del ejido de San Martín de los Andes se dividió en 9 estratos conformados por la totalidad de los barrios (figura 1, tabla 2). La estratificación se basó en el valor de los lotes para

Tabla 2: Composición barrial, valor fiscal de los lotes, cantidad de lotes, viviendas y personas muestreadas y cantidad de perros de los 9 estratos de San Martín de los Andes.

Table 2: District composition, treasury value of urban plots, amount of plots, houses and inhabitants sampled, and size of dog population within the 9 strata of San Martín de los Andes.

Estrato	Barrios	Valor (\$/m <sup>2</sup> )	Lotes n [%]	Viviendas n [%]	Personas [%]	Perros n [%]
1	Calderón, Godoy, Buenos Aires Chico, 3 de Caballería, Parque Sur, Vallejos, Cantera, Chacra 30 y Chacra 4	6,6	91 [14,6]	127 [14,6]	19,4	888 [16,2]
2	El Arenal, Villa Paur, Las Rosas y Villa Vega Maipú	7,4	103 [16,5]	127 [14,6]	18,5	1070 [19,5]
3	Kumel Kayén y Los Radales	7,7	43 [6,9]	46 [5,3]	5,9	424 [7,7]
4	La Cascada, Villa Vega San Martín y Nahuilén	13,7	79 [12,7]	90 [10,3]	11,9	666 [12,2]
5	Centro I (desde arroyo Pocahullo hasta cerro Curruhuinca y calle Köessler del 1500 al 1900, lado impar)	44,1	68 [10,9]	100 [11,5]	8,7	343 [6,3]
6	Los Robles, Rincón Radales y Ruca Hue	59,5	29 [4,6]	31 [3,6]	3,7	323 [5,9]
7	Alihuén, Giglio, Faldeos del Chapelco y Potrero Alto	60,1	66 [10,6]	70 [8,0]	9,0	434 [7,9]
8	Altos del Sol y El Oasis y calle Köessler (desde 1900 hasta el final, lado impar)	83,2	45 [7,2]	69 [7,9]	8,0	454 [8,3]
9	Centro II (límite lago Lácar, cerro Comandante Díaz y arroyo Pocahullo) y calles Köessler (lado par) y Los Cipreses	126,7	100 [16,0]	210 [24,1]	15,0	878 [16,0]
Total			624 [100]	870 [100]	100	5.480 [100]



Figura 1: Croquis del ejido urbano de San Martín de los Andes indicando la localización de los 9 estratos con algunos barrios utilizados para el estudio de la población canina.

Figure 1: Sketch of San Martín de los Andes city indicating the location of the 9 strata with some of its districts used to study the dog population.

los fines impositivos municipales y se asumió que este valor es un indicador de la condición socio-económica de los residentes en los lotes. Los estratos se ordenaron de acuerdo a un orden creciente de valor fiscal (tabla 2). Esta metodología permitió aumentar la precisión de las estimaciones y obtener información desagregada por estrato (17). En San Martín de los Andes existen marcadas diferencias en el valor de la tierra, teniendo en cuenta que los lotes del estrato 1 tienen una valuación fiscal alrededor de 20 veces menor que la de los lotes del estrato 9 (tabla 2).

En cada estrato se seleccionó al azar el 10 % de los lotes que contaban por lo menos con una vivienda habitada en forma permanente. Entre mayo y diciembre de 2005, se entrevistó a un informante adulto en cada una de las 870 viviendas de los 624 lotes seleccionados (tabla 3). El número de viviendas muestreadas fue mayor al número de lotes muestreados debido a que en algunos casos existió más de una vivienda por lote. La encuesta involucró preguntas acerca de:

- a) la cantidad de personas
- b) la cantidad de perros
- c) la edad de los perros
- d) el tamaño de los perros
- e) el sexo de los perros
- f) el estado reproductivo de los perros
- g) la frecuencia de desparasitación de los perros
- h) el esquema de vacunación de los perros
- i) el grado de dependencia de los perros con las personas

El muestreo basado en este cuestionario sólo permitió coleccionar información sobre el seg-

mento de los perros con dueño. Para el tamaño de los perros se utilizaron las categorías grande (peso > 30 kg), mediano (peso entre 15 y 30 kg) y pequeño (peso < 15 kg). Para el estado reproductivo se utilizaron las categorías no castrado y castrado. Para el grado de dependencia se utilizaron las categorías perro independiente, que involucró las categorías parcial y completamente independiente y perro dependiente (1). Esta variable requirió la formulación de preguntas adicionales sobre el patrón de desplazamiento y alimentación de los perros. Para conocer la relación cantidad de personas / cantidad de perros se utilizó una estimación de la población actual de habitantes de San Martín de los Andes, basada en un modelo exponencial de crecimiento desarrollado a partir de datos de los censos demográficos oficiales entre 1947 y 2001 (16).

El error estándar de las estimaciones para un muestreo estratificado se estimó en 7,6 %, y se calculó a partir de la cantidad de perros por lote de acuerdo a la siguiente ecuación (17):

$$EE = [t (\sum_{j=1}^9 (N_j / N) s_j) / \sqrt{n}] * 100 \quad (1)$$

Donde:

- EE = error estándar porcentual de muestreo
- t = estadístico de la distribución t para un nivel de confianza de 95 %
- N<sub>j</sub> = cantidad de lotes en el estrato j
- N = cantidad total de lotes
- j = número de estrato (j = 1,...,9)
- s<sub>j</sub> = desvío estándar de la cantidad de perros por estrato
- n = cantidad total de encuestas

## RESULTADOS

El tamaño de la población de perros en San Martín de los Andes se estimó en 5.480 (tabla 4). La mayor abundancia de perros se localizó en los estratos 1 (16,2 %, 888 perros), 2 (19,5 %, 1.069 perros) y 9 (16,0 %, 877 perros), mientras que en el estrato 6 sólo se encontró el 5,9 % (323 perros). En los estratos 1, 2 y 3 se localizaron el 43,5 % del total de los perros urbanos (tabla 2). El 39,6 % de los perros fueron hembras y esta cantidad tendió a aumentar linealmente en función del aumento del valor fiscal de los estratos. Por ejemplo, en el estrato 1 la proporción de hembras fue 32 %, en el estrato 5 fue 41 % y en el estrato 9 fue 49 % (tabla 4, figura 2). En los estratos con lotes de menor valor fiscal existió la mayor cantidad de lotes, viviendas y personas. Por ejemplo, en los estratos 1 al 3 la cantidad de lotes, viviendas y personas fue 38 %, 35 % y 44 %, respectivamente, del total en San Martín de los Andes (tabla 2). La cantidad de personas en cada vivienda tendió a disminuir en los estratos con lotes de mayor valor fiscal (ANOVA,  $P < 0,05$ ,  $n = 599$ ). Por ejemplo, en el estrato 1 se estimó en 4,4 personas / vivienda (EE = 0,23,  $n = 91$ ) mientras que en el estrato 9 se estimó en 2,7 personas / vivienda (EE = 0,19,  $n = 90$ ) (figura 3).

El cociente cantidad de personas / cantidad de perros fue igual a 5 teniendo en cuenta que la población estimada de San Martín de los Andes en 2005 fue 27.268 personas (tabla 5). Esta relación difirió estadísticamente entre estratos (ANOVA,  $P < 0,01$ ;  $F = 3,30$ ;  $n = 369$ ) y varió entre 3,1 personas / perro (estrato 6) y 6,9 personas / perro (estrato 5) (figura 4). Aunque en los estratos con el más bajo valor fiscal 1 y 2 se encontró la máxima abundancia de perros, la relación cantidad de personas por perro en el estrato 1 estuvo por encima del promedio (6,0 personas / perro) mientras que en el estrato 2 estuvo levemente por debajo (4,7 personas / perro) (figura 4). La cantidad de perros por vivienda exhibió un promedio de 0,62 y varió en forma significativa entre estratos (ANOVA,  $P < 0,01$ ;  $F = 2,71$ ;  $n = 600$ ). Los estratos que registraron valores mayores a este promedio fueron el 1 (0,69 perros / vivienda), 2 (0,83 perros / vivienda), 3 (0,91 perros / vivienda), 4 (0,73 perros / vivienda) y 6 (1,03 perros / vivienda) (figura 5).

La edad media de los perros en San Martín de los Andes se estimó en 4,9 años (tabla 4). En las clases de edad más jóvenes se agrupó la mayor cantidad de canes; por ejemplo, el 57,9 % de la población tenía hasta 5 años de edad, el 28,1 % tenía entre más de 5 y hasta 10 años y el 14,0 % tenía más de 10 años (figura 6). La edad media de los machos se estimó en 4,6 años (EE = 0,2;  $n = 328$ ) y la de las hembras en 5,3 años (EE = 0,3;  $n = 215$ ) (tabla 4); estos valores difirieron estadísticamente entre sí (ANOVA,  $P <$

Tabla 3: Resumen de la metodología utilizada para caracterizar la estructura de la población canina en San Martín de los Andes. (1) Cantidad de lotes muestreados con respecto al número total de lotes. (2) Error estándar para un muestreo estratificado obtenido a partir de la cantidad de perros por lote [EE (%) =  $(t (\sum P_j s_j) / \sqrt{n}) * 100$ ].  
Table 3: Summary of the methodology used to characterize the dog population structure in San Martín de los Andes. (1) Amount of urban plots sampled with respect to total amount of urban plots. (2) Standard error for a stratified sampling obtained from the amount of dogs per plot [SE (%) =  $(t (\sum P_j s_j) / \sqrt{n}) * 100$ ].

Variable	Cantidad
Estratos	9
Perros muestreados	543
Lotes muestreados	624
Viviendas muestreadas	870
Intensidad de muestreo (%) <sup>(1)</sup>	10,4
Error de muestreo (%) <sup>(2)</sup>	7,6

0,05;  $F = 4,14$ ;  $n = 543$ ). El 59,1 % de la población de perros macho tenía hasta 5 años de edad, mientras que el 11 % tenía más de 10 años. El 57,9 % de la población de perros hembra tenía hasta 5 años de edad, mientras que el 14 % tenía más de 10 años (figura 6). La edad media de los perros independientes se estimó en 4,8 años (EE = 0,2;  $n = 279$ ) y la de los dependientes en 4,9 años (EE = 0,2;  $n = 264$ ). Estos valores no difirieron estadísticamente entre sí (ANOVA,  $P < 0,01$ ;  $F = 0,09$ ;  $n = 543$ ). La edad de los perros difirió estadísticamente entre estratos (ANOVA,  $P < 0,01$ ;  $F = 5,41$ ,  $n = 544$ ). La edad media de los perros aumentó en los estratos con los lotes de mayor valuación. Por ejemplo, en el estrato 1 los perros tenían una edad media de 3,7 años (EE = 0,32,  $n = 88$ ), en el estrato 5 una de 4,5 años (EE = 0,58,  $n = 34$ ), y en el estrato 9 una de 6,0 años (EE = 0,43,  $n = 87$ ) (figura 7).

La cantidad de perros desparasitados con una frecuencia igual o menor a 4 meses sólo alcanzó el 21 % del total de la población, mientras que el 42 % se desparasitaron una única vez o con una frecuencia mayor a 4 meses y el 37 % nunca se desparasitó (figura 8). El 51,4 % de los perros perteneció a la categoría independiente (tabla 4). La proporción de perros independientes tendió a disminuir en los estratos conformados por los lotes de mayor valor fiscal. Por ejemplo, el 58,9 % de los perros del estrato 1 al 5 eran independientes, mientras que el 37,5 % de los perros del



Tabla 4: Resumen de las estimaciones sobre las características de la población canina en San Martín de los Andes. (\*) se refiere a la cantidad de perros desparasitados con una frecuencia máxima de 4 meses.

Table 4: Estimates summary of dog population structure in San Martín de los Andes. (\*) it refers to amount of dogs with treatment against parasites carried out every 4 months or less.

Característica	Cantidad
Perros totales (ind)	5.480
Perros macho (%)	60,4
Perros hembra (%)	39,6
Personas / Perro	5,0
Edad media (años)	4,9
Edad media machos (años)	4,3
Edad media hembra (años)	5,1
Viviendas con perros (%)	57
Lotes con perros (%)	59
Perros / vivienda	0,62
Perros independientes (%)	51,4
Perros grandes (%)	28,6
Perros vacunados (%)	69,6
Perros desparasitados (*) (%)	20,6
Perros castrados (%)	27,8
Hembras castradas (%)	65,1
Machos castrados (%)	2,8

estrato 6 al 9 pertenecían a esta categoría (figura 9). El 72 % de los perros independientes de San Martín de los Andes se encontró en los estratos 1 al 5, mientras que el 28 % restante se encontró en los estratos 6 al 9 (figura 9).

El 65,1 % de las hembras estaban castradas mientras que sólo el 2,8 % de los machos reunían esta condición (tabla 4). Los estratos 1 (53,6 %), 2 (50,0 %), 5 (35,7 %) y 7 (61,1 %) tuvieron el porcentaje de hembras castradas por debajo del promedio general. La totalidad de las hembras del estrato 6 estaba castrada (figura 10). En las clases de edad más jóvenes, el nivel de castración de las hembras fue muy bajo; por ejemplo, en la clase de edad 1 (0 - 1 año) sólo el 20 % estaban castradas, en la clase 2 (> 1 - 2 años) la castración aumentó a 44 % y en la clase 3 (> 2 - 3 años) alcanzó a 56 % (figura 11). La cantidad de perros independientes y no castrados fue 39,2 % con respecto a la cantidad total de perros y

disminuyó en los estratos que tuvieron el mayor valor fiscal (tabla 6, figura 12). Por ejemplo, en los estratos 1 y 2 esta categoría representó el 45,5 % y 58,5 % del total de perros del estrato, respectivamente. En cambio, en los estratos 8 y 9 esta categoría representó el 17,8 % y 26,4 % del total de perros del estrato, respectivamente. El 68 % del total de perros pertenecientes a esta categoría estaban en los estratos 1 al 4 y el 32 % restante en los estratos 5 al 9 (figura 12). La cantidad de hembras no castradas e independientes fue del 7,2 % del total de perros, mientras que la cantidad de hembras castradas y dependientes fue 14,2 %. En cambio, la cantidad de machos no castrados e independientes fue del 32,0 % del total de perros urbanos y la cantidad de machos castrados y dependientes fue sólo del 1,5 % (tabla 6).

## DISCUSIÓN

La cantidad y el estado de la población canina en San Martín de los Andes reflejan una situación insatisfactoria. La densidad de 1 perro cada 5 habitantes duplicó el valor de hasta 1 perro cada 10 habitantes recomendado por la Organización Mundial de la Salud (1). En los sectores económicamente más humildes la situación es particularmente desfavorable. Por ejemplo, en los estratos 1, 2 y 3 se localizó el 43 % de los perros, la mayor densidad de perros por vivienda, la mitad de los perros independientes y más de la mitad de los perros independientes y no castrados. La población canina estaría experimentando un rápido aumento de su tamaño fundamentalmente debido a dos procesos. Por un lado, un proceso de crecimiento intrínseco que resulta de la dominancia de animales jóvenes, independientes y con bajo nivel de castración, que tendrían tasas proporcionalmente grandes de fertilidad y bajas de mortalidad. Y por otro lado, un proceso de crecimiento extrínseco vinculado al extraordinario aumento, relacionado con la inmigración que proviene de otras regiones, de la cantidad de habitantes y presumiblemente de mascotas.

Deben continuar los esfuerzos institucionales para incorporar esta información demográfica a un programa integral de manejo de la población canina, que tenga en cuenta sobre todo las particularidades de los diferentes sectores de la ciudad. Para alcanzar resultados significativos y sostenidos en el largo plazo se debe intensificar la búsqueda de dos objetivos estratégicos. Un objetivo es el aumento del nivel de responsabilidad social acerca del cuidado de los perros, con énfasis en la educación y la información. Otro objetivo es garantizar el cumplimiento de la legislación sobre derechos de los animales y obligaciones de los propietarios, que debe ser congruente con valores éticos y culturales de la comunidad. Las medidas específicas deberían dirigirse a dismi-

nuir la densidad poblacional, a remover perros independientes de la vía pública, a mejorar la situación epidemiológica, a controlar el ambiente público asociado a los perros, especialmente el vinculado con los residuos domiciliarios, y a desarrollar un sistema que involucre la identifi-

cación, la licencia para tenencia y el registro de vacunación y desparasitación de los perros.

**AGRADECIMIENTOS**

Agradecemos a Virginia Fontana y Sergio Tiranti la revisión crítica del manuscrito. Este

Tabla 5: Cantidad de personas por perro en diferentes regiones.

Table 5: Amount of inhabitants per dog in different regions.

Lugar	Personas / perro
Santa Fe de Bogotá (ciudad, Colombia) (18, 19)	10,9
Belo Horizonte (ciudad, Brasil) (20)	8,6
Santiago de Chile (ciudad, Chile) (20)	7,4
Asunción (ciudad, Paraguay) (20, 21)	6,8
Maracaibo (ciudad, Venezuela) (22)	6,7
Morón (ciudad, Argentina) (23)	6,0
Chubut (provincia, Argentina) (23)	5,7
Rosario (ciudad, Argentina) (23)	5,1
Buenos Aires (provincia, Argentina) (23)	5,0
Neuquén (ciudad, Argentina) (23)	5,0
San Pablo (ciudad, Brasil) (24)	5,0
San Martín de los Andes	5,0
General Pico (ciudad, Argentina) (23)	4,6
Costa Rica (25)	4,0
Reino Unido (20)	3,1

Tabla 6: Cantidad y proporción de perros con relación al total de acuerdo con el sexo, la castración y la dependencia con el propietario en San Martín de los Andes.

Table 6: Amount and proportion of dogs with respect to total population related to sex, castration, and owner dependence in San Martín de los Andes.

Sexo	Condición	Nivel de dependencia		Total n [%]
		independiente n [%]	dependiente n [%]	
hembra	castrada	636 [11,6]	777 [14,2]	1.413 [25,8]
	no castrada	394 [7,2]	363 [6,6]	757 [13,8]
macho	castrado	30 [0,6]	81 [1,5]	111 [2,0]
	no castrado	1.756 [32,0]	1.443 [26,3]	3.199 [58,4]
<b>Total</b>		2.816 [51,4]	2.664 [48,6]	5.480 [100]

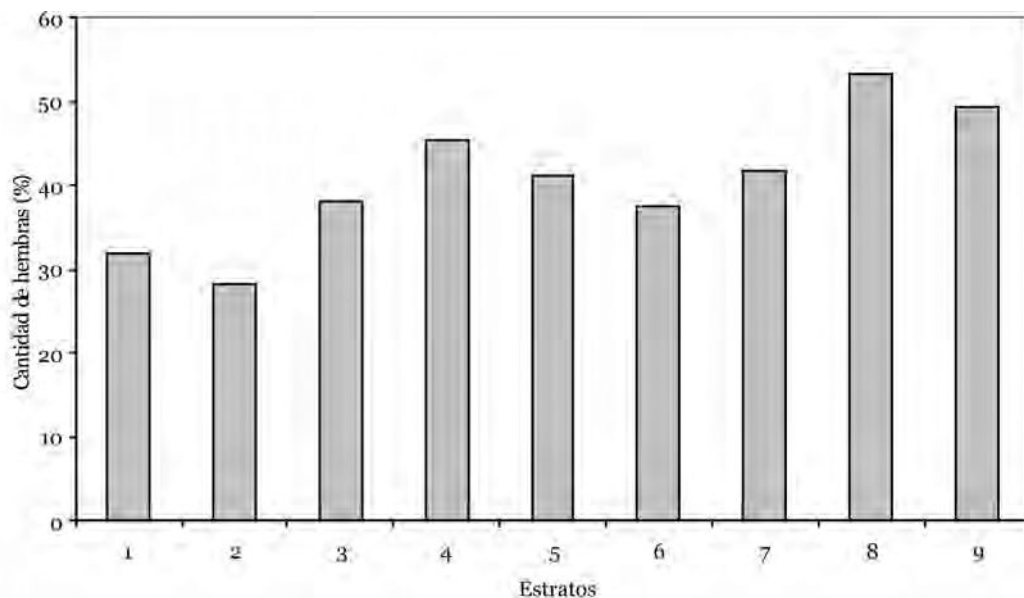


Figura 2: Cantidad de perros hembra (%) en función de la cantidad total de perros por estrato en San Martín de los Andes.

Figure 2: Amount of female dogs (%) with respect to total amount of dogs per stratum in San Martín de los Andes.

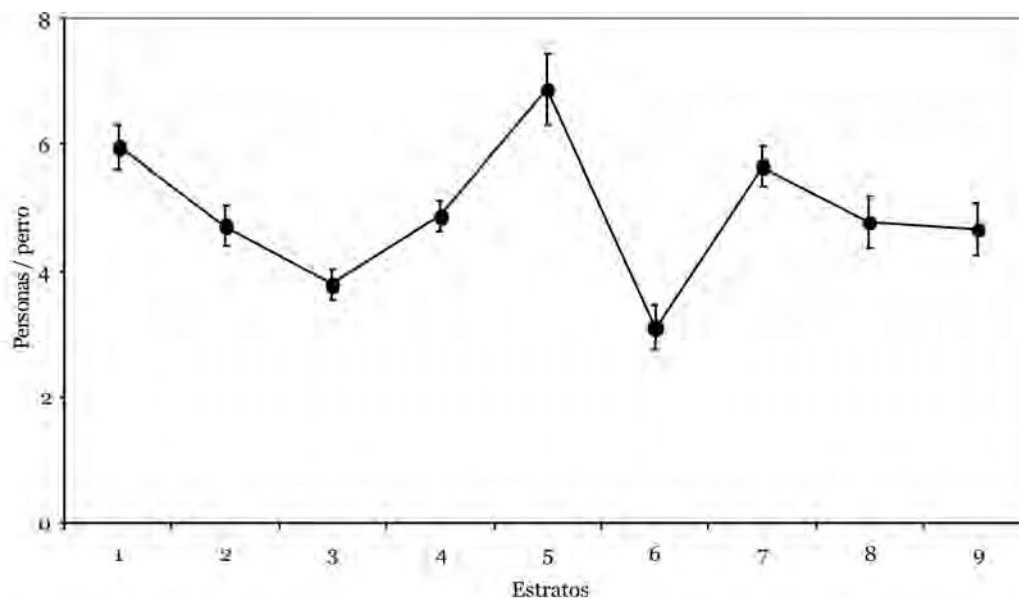


Figura 3: Cantidad de personas por vivienda en los 9 estratos de San Martín de los Andes. Las barras verticales indican el error estándar de la media. El cociente difiere significativamente entre estratos (ANOVA,  $P < 0,01$ ;  $F = 7,84$ ;  $n = 599$ ).

Figure 3: Amount of inhabitants per house within the 9 strata in San Martín de los Andes. Vertical bars indicate the standard error of the mean. Mean values significantly differ among strata (ANOVA,  $P < 0.01$ ,  $F = 7.84$ ,  $n = 599$ ).

estudio contó con la colaboración de la Secretaría de Gobierno y del Consejo Deliberante de San Martín de los Andes y fue financiado por la Provincia de Neuquén, la Universidad Nacional del Comahue y la Municipalidad de San Martín de los Andes.

### BIBLIOGRAFÍA

1. WHO. WHO - WSPA guidelines for dog population management. World Health Organization - World Socie-

ty for the Protection of Animals, Ginebra (Suiza), 1990; p.1-116.

2. Van der Hoeden J. Zoonoses. Ed. Elsevier. Amsterdam (Países Bajos), 1964; p.1-774.

3. Hubbert W, McCulloch W, Schnurrenberger P. Diseases transmitted from animals to man. Ed. CC Thomas, Springfield (USA), 1975; p.1-1206.

4. OPS. El control de las enfermedades transmisibles. Organización Panamericana de la Salud (OPS) - Or-

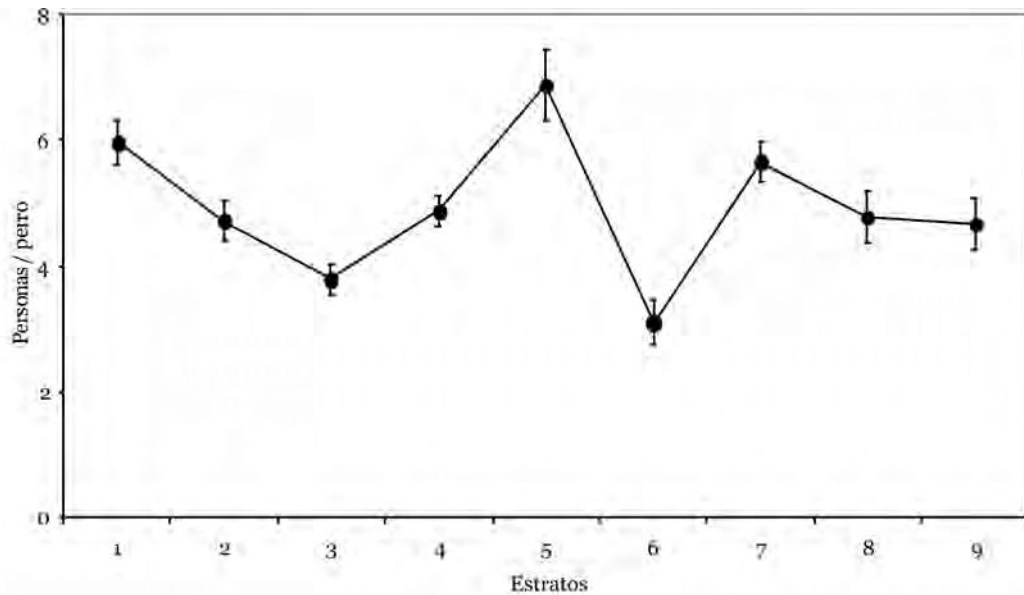


Figura 4: Cantidad de personas por perro en los 9 estratos de San Martín de los Andes. Las barras verticales indican el error estándar de la media. El cociente difiere significativamente entre estratos (ANOVA,  $P < 0,01$ ;  $F = 3,30$ ;  $n = 369$ ).

Figure 4: Amount of inhabitants per dog within the 9 strata in San Martín de los Andes. Vertical bars indicate the standard error of the mean. Means significantly differ among strata (ANOVA,  $P < 0.01$ ,  $F = 3.30$ ,  $n = 369$ ).

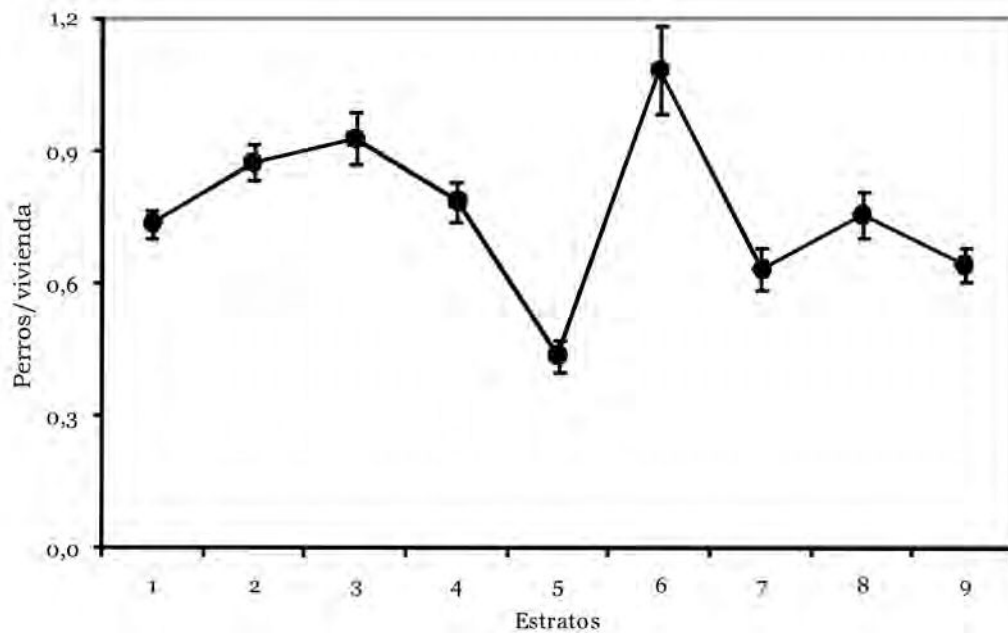


Figura 5: Cantidad de perros por vivienda en los 9 estratos de San Martín de los Andes. Las barras verticales indican el error estándar de la media. El cociente difiere significativamente entre estratos (ANOVA,  $P < 0,01$ ;  $F = 2,71$ ;  $n = 600$ ).

Figure 5: Amount of dogs per house within the 9 strata in San Martín de los Andes. Vertical bars indicate the standard error of the mean. Means significantly differ among strata (ANOVA,  $P < 0.01$ ,  $F = 2.71$ ,  $n = 600$ ).

ganización Mundial de la Salud. Washington (USA), 2001; p.1-783.

5. Brusoni C, Chistik J, Fernández Canigia J. Estudio de la contaminación con huevos de *Toxocara sp.* en suelos de espacios públicos de San Martín de los Andes, Provincia del Neuquén, Argentina. Rev Vet 2005; 6(10): 1-13.

6. Harris D, Imperato P, Oken B. Dog bites: an unrecognized epidemic. Bull NY Acad Med 1974; 50: 981-1000.

7. Hervey E. Incidence of bites due to dogs and other animals in Leeds. British Med J 1977; 2: 53-54.

8. Winkler W. Human death induced by dog bites, United States, 1974 - 1975. Public Health Rep 1977; 92: 425-429.

9. Marr J, Beck A, Lugo J. An epidemiologic study of human bite. Public Health Rep 1979; 94: 514-521.

10. Nixon J, Pearn J, McGarn F. Dog bite injuries to children. Med J Aust 1980; 1: 175-176.

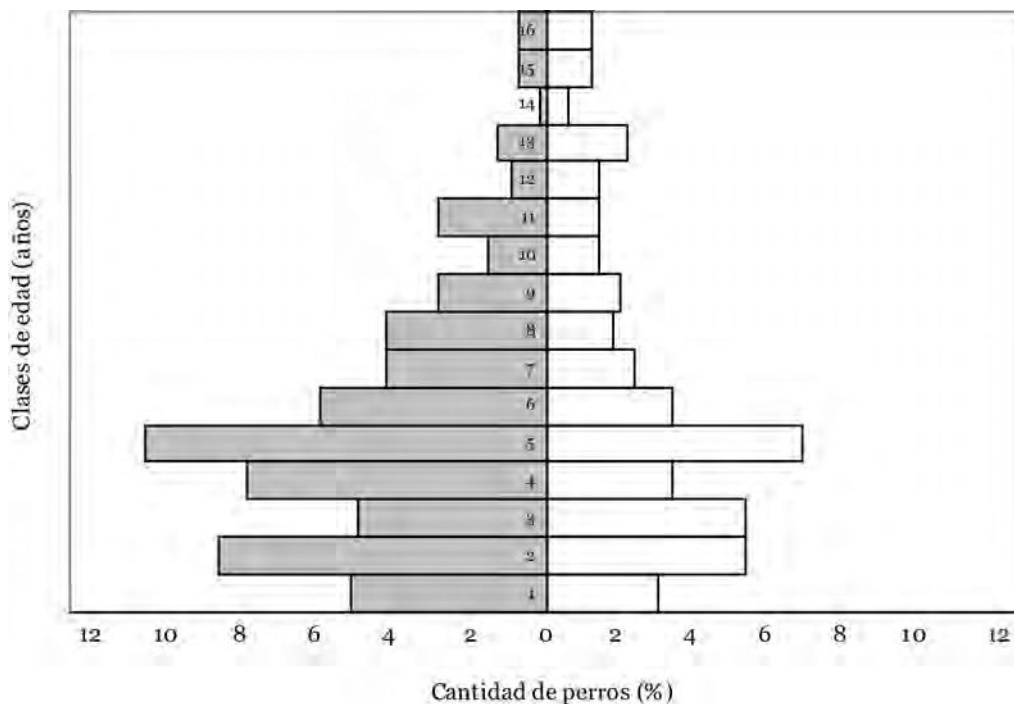


Figura 6: Estructura de edad de la población de perros macho (barra gris) y hembra (barra blanca) en San Martín de los Andes (clase 1: > 0 - 1 año, clase 2: > 1 - 2 años,..., clase 16: > 15 años).  
 Figure 6: Age structure of male (grey bar) and female (white bar) dogs in San Martín de los Andes (class 1: > 0 - 1 yr., class 2: > 1 - 2 yr.,..., class 16: > 15 yr.).

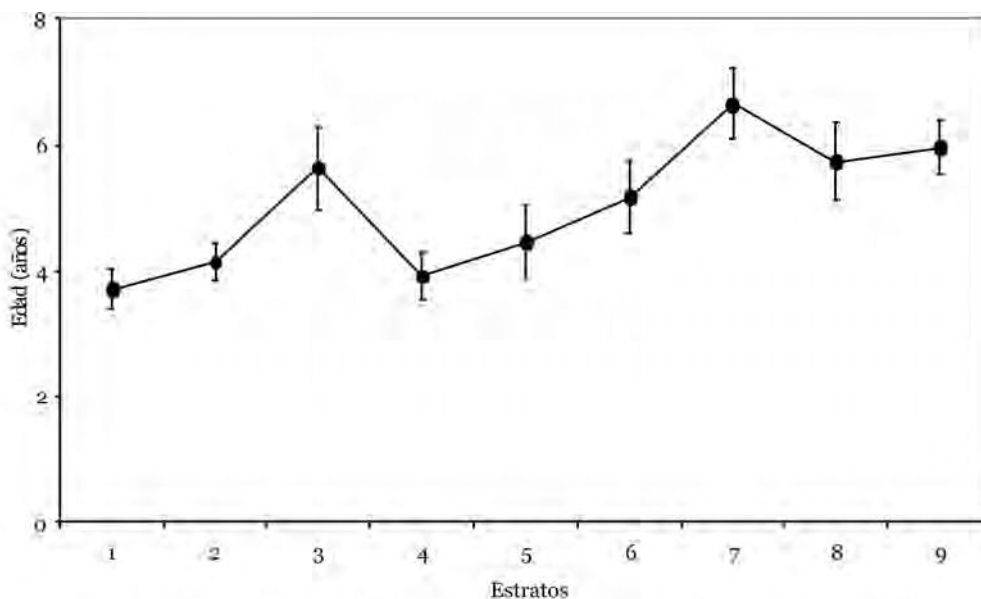


Figura 7: Edad media de los perros en los 9 estratos de San Martín de los Andes. Las barras verticales indican el error estándar de la media. La edad difiere significativamente entre estratos (ANOVA,  $P < 0,01$ ,  $F = 5,41$ ,  $n = 544$ ).  
 Figure 7: Mean age of dogs within the 9 strata in San Martín de los Andes. Vertical bars indicate the standard error of the mean. Means significantly differ among strata (ANOVA,  $P < 0.01$ ,  $F = 5.41$ ,  $n = 544$ ).

11. Beck A. The epidemiology of animal bite. Compendium on Continuing Education for the Veterinary Practitioners 1981; 3: 254-258.  
 12. Nesbitt W. Ecology of feral dog pack on a wildlife refuge. En: The wild canid. M Fox (ed.). Ed. Van Nostrand Reinhold. New York (USA), 1975; p.391-396.  
 13. Ferrer J, Mendiá M, Irrisarri J. Estudio regional de los suelos de la provincia del Neuquén. CFI - COPADE.

Neuquén (Argentina), 1991; p.1-783.  
 14. Del Valle A, Funes M. Vertebrados de la provincia del Neuquén. Centro de Ecología Aplicada del Neuquén, Dirección General de Tecnología Agraria, Subsecretaría de Producción Agraria. Junin de los Andes (Argentina), 1994; p.1-26.  
 15. INDEC. Censo nacional de población y vivienda. Serie B. Instituto Nacional de Estadística y Censos.

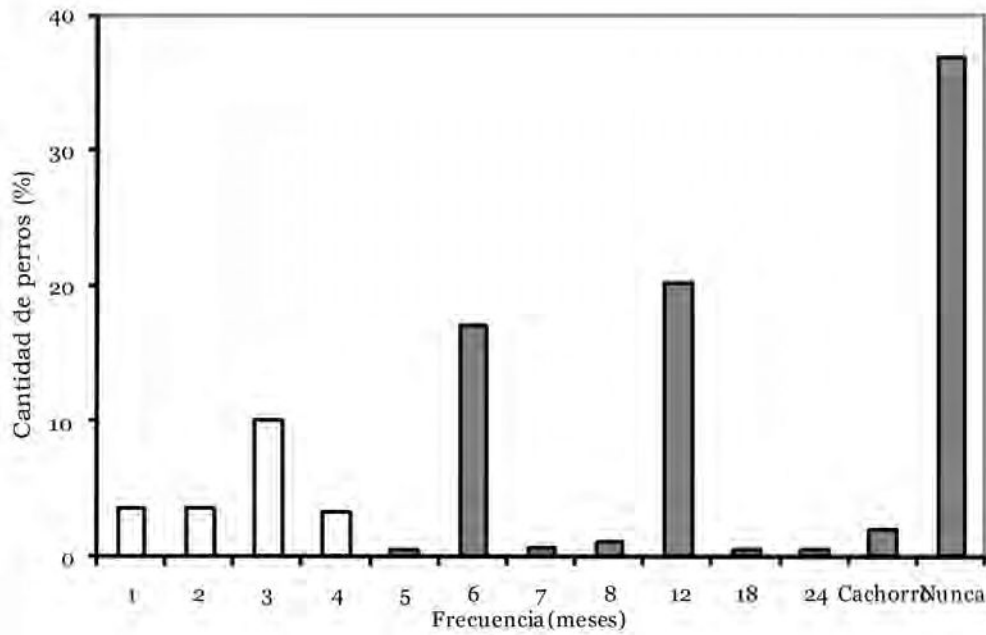


Figura 8: Cantidad de perros en San Martín de los Andes desparasitados cada 4 meses o menos (barra blanca), cada 5 meses o más, sólo en la etapa de cachorro o nunca (barra gris).  
 Figure 8: Amount of dogs with treatment against parasites carried out every 4 months or less (white bar), every 5 months or more, only as a dog pup or never (grey bar).

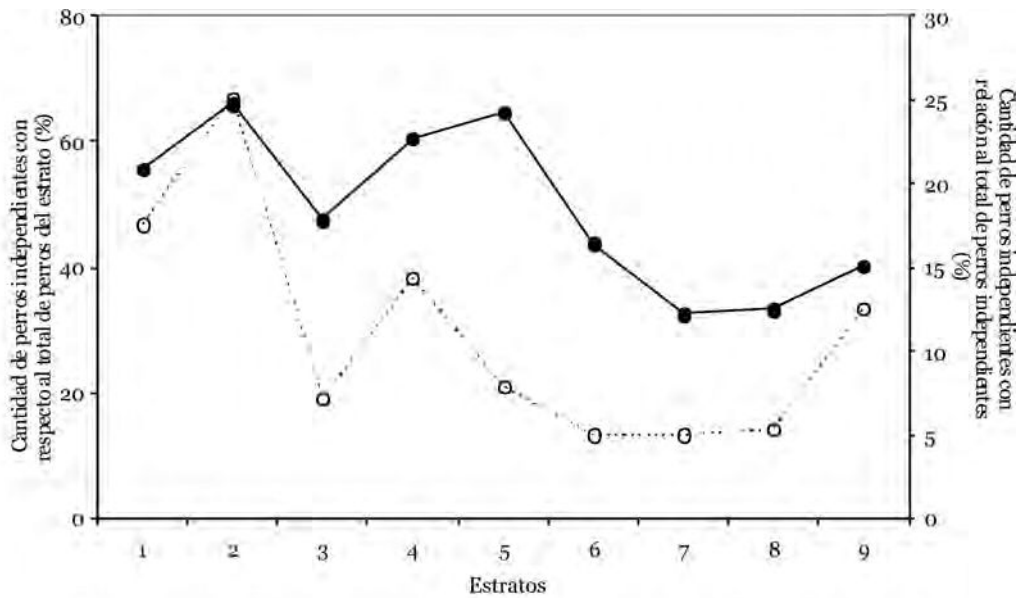


Figura 9: Cantidad de perros independientes en San Martín de los Andes con respecto al total de perros del estrato (eje y primario, círculos negros, línea continua) y al total de perros independientes (eje y secundario, círculos blancos, línea discontinua).  
 Figure 9: Amount of independent dogs in San Martín de los Andes with respect to amount of dogs per strata (primary y-axis, black circles, continuous line) and total amount of independent dogs (secondary y-axis, white circles, discontinuous line).

Buenos Aires (Argentina), 1947-2001.

16. Dezzotti A. El crecimiento urbano en el norte de la Patagonia: los casos de Neuquén, San Carlos de Bariloche y San Martín de los Andes. Informe técnico. Universidad Nacional del Comahue. San Martín de los Andes (Argentina), 2005; p.1-30.

17. Lohr S. Muestreo: diseño y análisis. Ed. Thomson International. México DF (México), 2000; p.1-494.

18. CODEISA - SDS. Comportamiento de la población canina del Distrito Capital analizando tasas de fecun-

didad, natalidad y mortalidad y la relación hombre-animal. Publicación 39. Secretaría Distrital de Salud. Santa Fe de Bogotá (Colombia), 2003; p.1-77.

19. FVSSM. Análisis de la población canina en el Distrito Capital. Informe Final. Fundación Veterinaria para la Seguridad Social de las Mascotas (FVSSM). Secretaría Distrital de Salud. Bogotá DC (Colombia), 2005; p.1-128.

20. Álvarez Peralta E, Domínguez J. Programa para el control integral de la población canina. Rev AMMVEPE 2001; 12(3): 83-91.

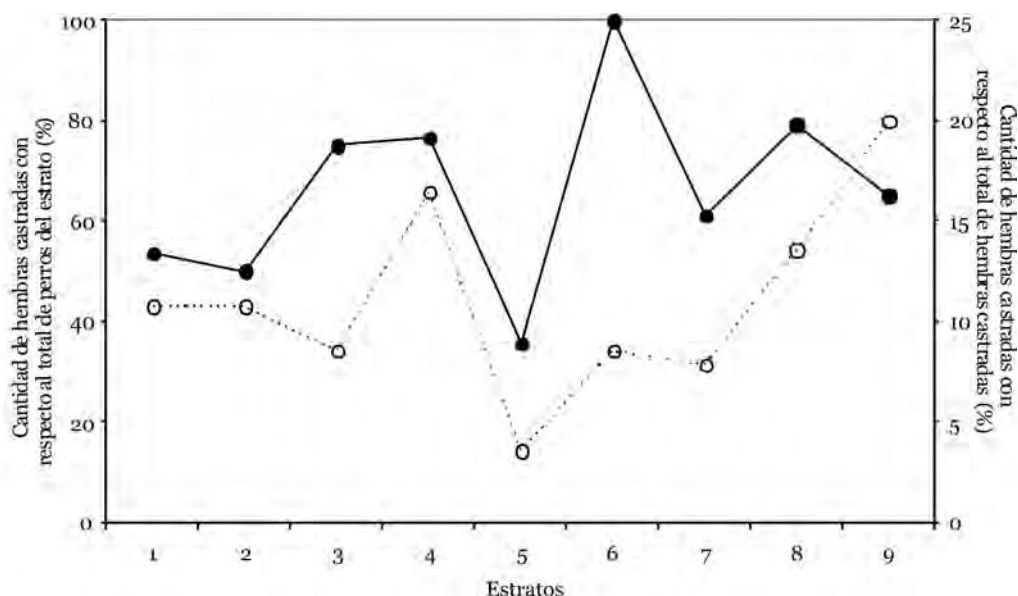


Figura 10: Cantidad de hembras castradas en San Martín de los Andes en función del total de hembras del estrato (eje y primario, círculos negros, línea continua) y al total de hembras castradas (eje y secundario, círculos blancos, línea discontinua).

Figure 10: Amount of castrated females in San Martín de los Andes with respect to total amount of female per strata (primary y-axis, black circles, continuous line) and total amount of castrated females (secondary y-axis, white circles, discontinuous line).

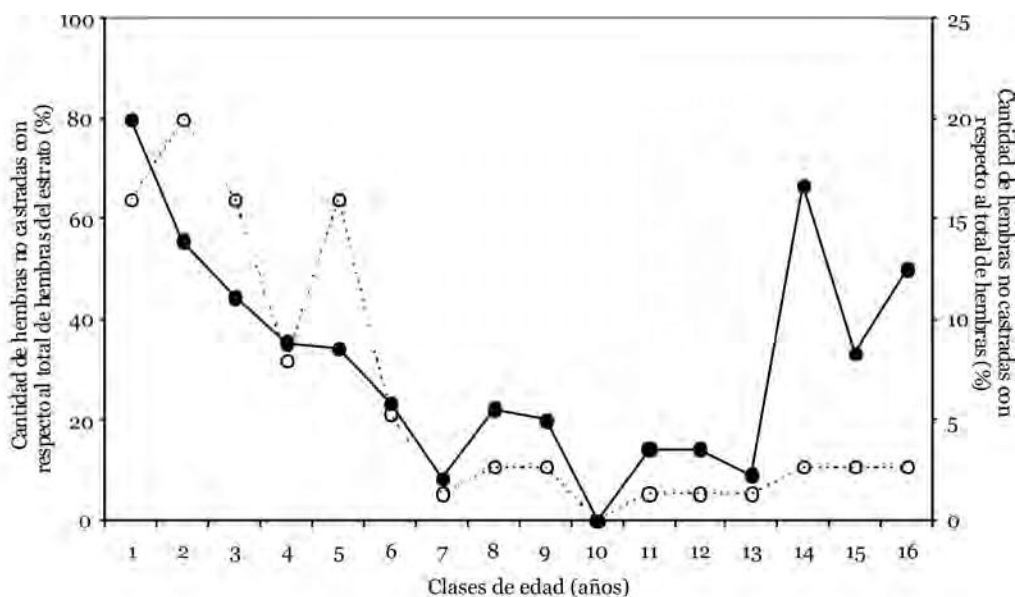


Figura 11: Cantidad de hembras no castradas en San Martín de los Andes en función de la edad con respecto a las hembras del estrato (eje y primario, círculos negros, línea continua) y al total de hembras (eje y secundario, círculos blancos, línea discontinua). Clase 1: > 0 - 1 año, clase 2: > 1 - 2 años,...., clase 16: > 15 años.

Figure 11: Amount of non-castrated dog females in each age class in San Martín de los Andes with respect to amount of females per strata (primary y-axis, black circles, continuous line) and total amount of females (secondary y-axis, white circles, discontinuous line). Class 1: > 0 - 1 yr., class 2: > 1 - 2 yr.,...., class 16: > 15 yr.

21. Barreto A. Caracterización de la población canina como apoyo al control de la rabia en la República del Paraguay. Tesis de Magister en Ciencias en Salud Animal. Facultad de Ciencias Pecuarias y Medicina Veterinaria. Universidad de Chile. Santiago (Chile), 1977; p.1-69

22. García A, Prieto Y, Sánchez E, Medina A, Oviedo M. Factores de riesgo asociados a la ocurrencia de rabia urbana en el Municipio Maracaibo del Estado Zulia, Venezuela. Rev Científica 2006; 16 (2):165-175.

23. Bergagna H. Control poblacional canino en Neu-

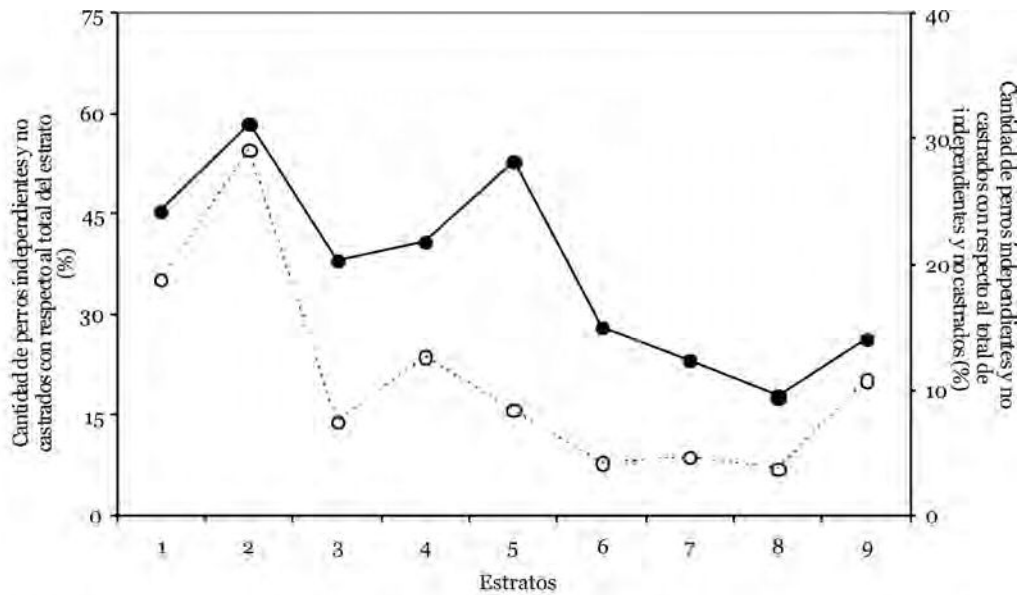


Figura 12: Cantidad de perros independientes y no castrados en San Martín de los Andes con respecto al total de perros del estrato (eje y primario, círculos negros, línea continua) y al total de perros independientes y no castrados (eje y secundario, círculos blancos, línea discontinua).

Figure 12: Amount of independent and non-castrated dogs in San Martín de los Andes with respect to total amount of dogs per strata (primary y-axis, black circles, continuous line) and total amount of independent and non-castrated dogs (secondary y-axis, white circles, discontinuous line).

quén desde 1992. Conferencia y Mesa redonda: Poblaciones caninas urbanas: impacto y control. Actas XVII Congreso Latinoamericano de Parasitología. Mar del Plata (Argentina), 2005, p.35.

24. FAPESP. 2004. Más perros y gatos en las ciudades. Rev Pesquisa (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) 105.

25. Clifton M. 1998. Ecología del perro en Puerto Rico. Rev Animal People. Disponible en: <http://www.animal-peoplenews.org/FR/SP/Traduc.1/SP.html>.



## MEDICIÓN ULTRASONOGRÁFICA DE ESTRUCTURAS MATERNAS Y FETALES PARA LA ESTIMACIÓN DE EDAD GESTACIONAL EN CANINOS

Rodríguez R<sup>1</sup>, Tortora M<sup>1</sup>, Blanco P<sup>1</sup>, Pons E<sup>1</sup>, Rube A<sup>1</sup>,  
Corrada Y<sup>2</sup>, Gobello C<sup>2</sup>, Arias D<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Métodos Complementarios de Diagnóstico

<sup>2</sup>Laboratorio de Nutrición Mineral y Fisiología Reproductiva  
Facultad de Ciencias Veterinaria. Universidad Nacional de La Plata

**Resumen:** En la especie canina, la estimación de edad gestacional por ecografía es limitada debido a la gran variedad de tamaños de razas. El objetivo del presente trabajo fue medir ultrasonográficamente diferentes estructuras maternas y fetales, de utilidad para la determinación de la edad gestacional, en perras de diversos tamaños. Se utilizaron 27 hembras caninas preñadas, clasificadas según su peso en perras: pequeñas <10; medianas 10,1- 20; y grandes 20,1 < 35. Se realizó el diagnóstico ecográfico de gestación entre el día 25 y 30 del primer servicio, prosiguiendo con exámenes ecográficos cada 10 días hasta el parto. Se realizaron las siguientes mediciones ecográficas: diámetros uterino externo e interno, corporal fetal y biparietal, longitud femoral fetal y frecuencia cardíaca fetal. Los cuatro diámetros y la longitud femoral se incrementaron con la edad gestacional en las hembras pequeñas, medianas y grandes. La frecuencia cardíaca fetal osciló entre 205 y 242 latidos por minuto a lo largo de la gestación con una tendencia de descenso al final de la misma en todos los casos. Resta estudiar un mayor número de animales a fin de establecer los rangos normales para los tres tamaños de razas.

**Palabras Claves:** gestación- ultrasonografía- parto- perra

## ULTRASOUND MEASUREMENTS OF MATERNAL AND FETAL STRUCTURES FOR ESTIMATION OF GESTATIONAL AGE IN DOGS

**Abstract:** In dogs estimation of gestational age is limited by the variety of sizes of different breeds. The aim of this study was to ultrasound measure the size of some fetal and extrafetal structures useful to determine gestational age in bitches of different sizes. Twenty seven small, medium and large size bitches were included. Ultrasound confirmation of pregnancy was carried out between days 25 and 30 form first mating and, then, examinations were repeated every 10 days until parturition. External and internal uterine diameters, fetus biparietal and body diameters and femoral longitude were measured. The four diameters and femoral longitude increased throughout gestation in all bitches' sizes. Heart rate ranged from 205 to 242 bpm with a tendency to diminish at the end of gestation in all the cases. A larger number of animals is still necessary to establish normal reference ranges of these parameters in the three breed sizes.

**Key words:** pregnancy- ultrasonography- parturition- bitch

Fecha de recepción: 23/12/06

Fecha de aprobación: 05/06/07

**Dirección para correspondencia:** Daniel Arias, Servicio de Cardiología.C.C. 296, (B1900AVW) La Plata, ARGENTINA.

**E-mail:** dlfarias@yahoo.com.ar

## INTRODUCCIÓN

La ultrasonografía transabdominal es utilizada rutinariamente como método de diagnóstico de gestación (1, 2, 3, 4) y viabilidad fetal en la perra (5, 6). Sin embargo, y en comparación con el humano, su utilización para estimar la edad gestacional es limitada en esta especie. Esto es debido a la gran variación de tamaños de razas de perros, las cuales presentan estructuras fetales y extra-fetales de dimensiones distintas en función del tamaño de la propia hembra gestante.

Usualmente, propietarios y criadores consideran el inicio de la gestación como equivalente al día del servicio, sin embargo, el peligro de esta estimación es la gran imprecisión que conlleva. La duración de la gestación canina puede ser de 57 a 72 días, si se cuenta a partir del día del primer servicio.

En tanto, considerando desde el pico pre-ovulatorio de hormona luteinizante (LH), la gestación dura 65 +/- 1 día (7). La ovulación de la perra ocurre 24 a 72 horas luego del pico de LH (8), en tanto la duración del estro se extiende de 5 a 9 días (9). Durante el periodo fértil, el apareamiento puede ocurrir en una o más oportunidades. Asimismo los espermatozoides caninos son capaces de mantenerse fértiles durante 5 a 7 días en el tracto reproductivo de la hembra (10). Por lo tanto, el momento exacto de la concepción como punto de partida para estimar la edad gestacional, no es posible de conocer en la especie canina. De aquí surge la importancia de la ultrasonografía transabdominal para evaluar edad gestacional (11).

El primer signo de confirmación de gestación es la detección ultrasonográfica del saco gestacional, que no es más que el blastocisto maduro, dentro del cual se desarrolla el embrión. El saco gestacional es muy pequeño al día 20 de gestación, pero puede ser detectado ecográficamente bajo buenas condiciones. Clínicamente se prefiere que el propietario acuda a realizar la confirmación ecográfica de preñez aproximadamente a partir del día 25 post servicio, debido a que el porcentaje de los falsos negativos en esta fecha disminuyen considerablemente.

Alrededor del día 20 del pico de LH el saco gestacional puede observarse como una estructura de 2 mm de diámetro con contenido anecogénico (fluido coriónico) y, posteriormente, con una pequeña estructura ecogénica (trofo-blasto) en su interior. La vesícula embrionaria es la única estructura fehacientemente medible hasta el día 25 de gestación. El embrión es visible entre los días 23-25 como una formación ecogénica de unos pocos mm de diámetro (12). La visualización de la placenta ocurre entre los días 27 a 30 cual un alargamiento cilíndrico focal, bien evidente hacia el día 36. La actividad cardíaca es reconocida cuando se visualiza el embrión, hacia el día

23- 25 posterior al pico de LH (12), en tanto los movimientos fetales pueden observarse unos 10 días más tarde (12). El desarrollo fetal es rápido y progresivo a partir del día 30, y los componentes del esqueleto fetal pueden observarse entre los días 33 a 39 como estructuras hiperecoicas que generan sombra acústica (12).

En la literatura existen limitados informes completos respecto de la edad gestacional y el desarrollo fetal en caninos (12, 13, 14), muchos de los cuales fueron realizados en hembras de talla media. La relación entre el tamaño de la madre y el tamaño de las estructuras fetales y extra-fetales en las razas pequeñas y grandes también debe ser estudiado.

Por lo anteriormente expuesto, el objetivo del presente trabajo fue evaluar ultrasonográficamente las medidas de diferentes estructuras maternas y fetales de utilidad para la estimación de la edad gestacional en perras de diversos tamaños.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Animales

Se utilizaron datos de 27 hembras caninas sanas, de distintas razas entre 2 y 7 años, preñadas, las cuales se clasificaron de acuerdo a su peso en los siguientes grupos: perras pequeñas <10 (Grupo I, n= 5); medianas 10,1- 20 (Grupo II, n= 8); y grandes 20,1 < 35 (Grupo III, n= 14).

### Estudios Ecográficos

Se realizó, en todos los casos, el diagnóstico ecográfico de gestación en tiempo real, modo 2D y M, en escala de grises con transductores lineal o sectorial con frecuencias de 3.5, 5 a 7.5 MHz (Toshiba Core Visión Pro, Japón) entre el día 25 y 30 luego del primer servicio (1). Posteriormente, se prosiguió con exámenes ecográficos cada 10 días hasta el parto. Los exámenes se realizaron con los animales en estación o decúbito dorsal aplicándose abundante gel de acoplamiento en la región ventral y sin realizar la tricotomía local. Luego de localizar e inspeccionar en su totalidad el útero, se seleccionó un mínimo de dos fetos para el cálculo de los valores medios de las siguientes mediciones:

- Diámetro uterino externo
- Diámetro uterino interno
- Diámetro corporal fetal
- Diámetro fetal biparietal
- Longitud femoral fetal
- Frecuencia cardíaca fetal

Todas las mediciones se realizaron en milímetros con la mayor exactitud posible utilizando los *callipers* electrónicos del equipo. Los diámetros uterinos externo e interno se tomaron a nivel

del cuerpo del *conceptus*, en un plano de corte transversal, a la altura del estómago (Foto 1).

Los embriones se tornaron visibles alrededor del día 26 y desde ese momento en adelante fue posible medir el diámetro corporal fetal a la altura del estómago e hígado (Foto 2).

El diámetro biparietal fue determinado cuando la cabeza fetal pudo ser distinguida del resto del cuerpo (> día 28) y se midió con una sección coronal de la cabeza (Foto 3). Una vez que el esqueleto se visualizó (> día 35) la longitud femoral fetal pudo también ser medida (Foto 4). Por otra parte, la frecuencia cardíaca (latidos/minuto) se determinó a partir del día 25 utilizando el modo M.

Debido a que no se determinó el día del pico de LH en todas las perras estudiadas, los resultados obtenidos se calcularon retrospectivamente como días antes del parto (día 65). Cuando fue posible se tomaron tres periodos gestacionales: 40 a 36 días preparto correspondientes al intervalo entre el día 25 y 29 de gestación (gestación temprana), 35 a 20 días preparto

correspondientes al intervalo entre el día 30 y 45 de gestación (gestación media) y 19 a 1 días preparto correspondiente a los días 46 y 64 de gestación (gestación tardía).

Se realizó una estadística descriptiva de las medidas obtenidas en los distintos tamaños de animales y periodos gestacionales. Los datos se expresaron como la media  $\pm$  SEM (Error Standard).

## RESULTADOS

Como era esperado, los diámetros uterinos externo e interno (Figuras 1 y 2), el corporal (Figura 3) y biparietal fetal (Figura 4) y la longitud femoral fetal (Figura 5) se incrementaron con la edad gestacional en las hembras caninas pequeñas, medianas y grandes.

La frecuencia cardíaca de todos los fetos estudiados se mantuvo en un rango de 205 y 242 latidos por minuto a lo largo de la gestación con una tendencia de descenso al final de la misma (Figuras 6 y 7).

## DISCUSIÓN



**Foto 1:** Diámetro uterino externo de una hembra de raza Caniche Toy de 60 días de gestación.

**Picture 1:** External uterine diameter of a 60-days pregnant female miniature Poodle.



**Foto 3:** Diámetro biparietal del mismo feto de la Foto 2.

**Picture 3:** Biparietal diameter of the fetus of Picture 2.



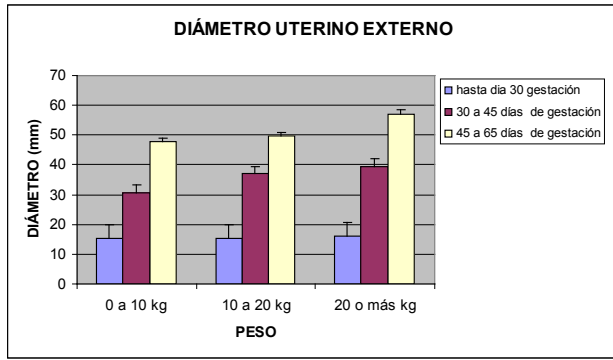
**Foto 2:** Diámetro corporal un feto de raza Caniche Toy de 60 días de gestación.

**Picture 2:** Body diameter of a 60-days miniature Poodle fetus.



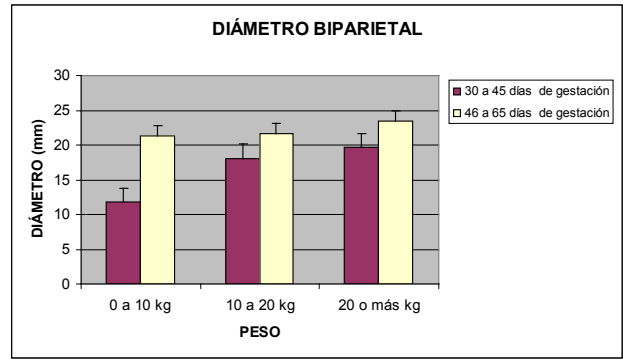
**Foto 4:** Longitud femoral del mismo feto de la Foto 2.

**Picture 4:** Femoral longitude of the fetus of Picture 2.



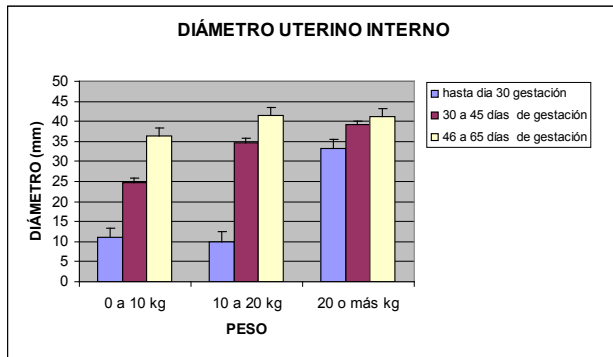
**Figura 1:** Diámetro uterino externo (x ± SEM) en 27 perras de tamaño chico Pequeñas <10; medianas 10,1- 20; y grandes 20,1 < 35 en distintos periodos de la gestación

**Figure 1:** External uterine diameter (x ± SEM) of 27 bitches of different body weight: small <10; medium 10,1- 20; and large 20,1 < 35 (< 10 kg), in different stages of gestation.



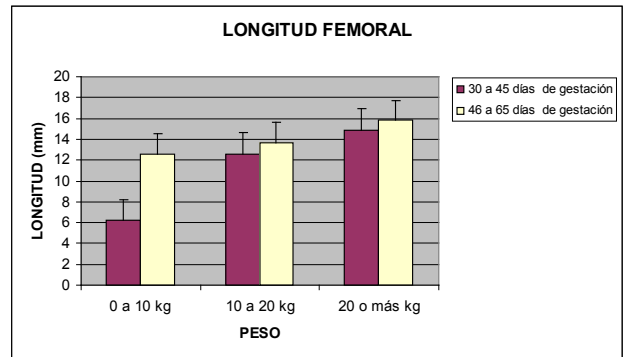
**Figura 4:** Diámetro biparietal fetal (x ± SEM) de los mismos animales de la Figura 1.

**Figure 4:** Biparietal diameter (x ± SEM) of the same animals than in Figure 1



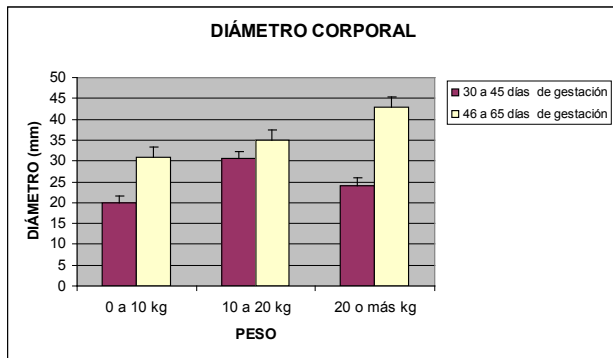
**Figura 2:** Diámetro uterino interno (x ± SEM) de los mismos animales de la Figura 1.

**Figure 2:** Internal uterine diameter (x ± SEM) of the same animals than in Figure 1.



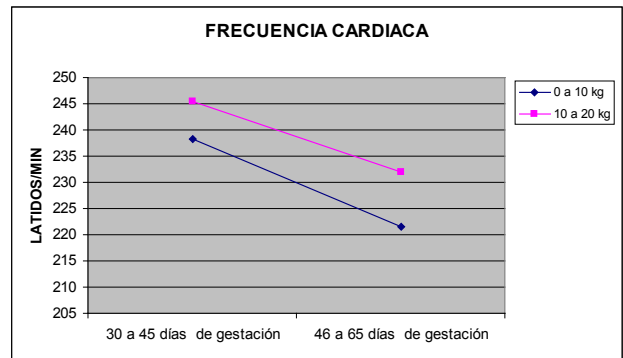
**Figura 5:** Longitud femoral fetal (x ± SEM) de los mismos animales de la Figura 1

**Figure 5:** Length femoral (x ± SEM) of the same animals than in Figure 1



**Figura 3:** Diámetro corporal fetal (x ± SEM) de los mismos animales de la Figura 1.

**Figure 3:** Body diameter (x ± SEM) of the same animals than in Figure 1.



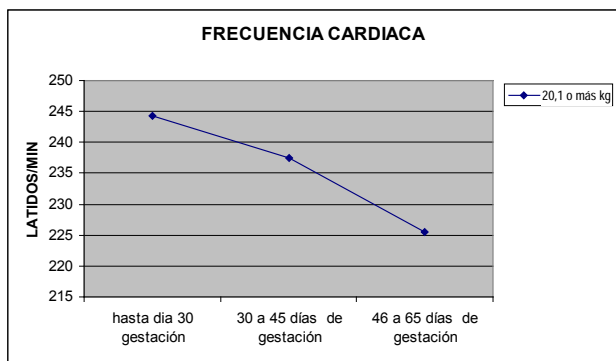
**Figura 6:** Frecuencia cardiaca fetal (x ± SEM) en las hembras chicas y medianas de la Figura 1 en gestación media y tardía.

**Figure 6:** Heart rate (x ± SEM) of the small and medium bitches of Figure 1 in mid and late gestation.

La capacidad para determinar por medio de la ultrasonografía transabdominal la edad gestacional y predecir el momento en que se desencadenará el parto, puede considerarse una gran ventaja en perras que han recibido servicios múltiples, en aquellas en las que no se conoce el día de apareamiento, o en hembras en las

que se tiene, por distintas razones, que realizar cesárea.

En este estudio las diferentes estructuras fetales y extra-fetales fueron identificadas y medidas durante la gestación. Cada una de estas estructuras resultó más claramente detectada en determinadas etapas de la preñez. Así por



**Figura 7:** Frecuencia cardíaca fetal ( $x \pm$  SEM) de las hembras grandes de la Figura 1 en gestación temprana, media y tardía.

**Figure 7:** Heart rate ( $x \pm$  SEM) of the large bitches of Figure 1 in early, mid and late gestation.

ejemplo, algunos autores afirman que el diámetro del saco gestacional es un buen indicador para la evaluación del desarrollo embrionario en la preñez temprana a partir del día 18. En el presente trabajo, los diámetros uterinos externo e interno pudieron ser tomados desde el diagnóstico de gestación y aumentaron su tamaño con el progreso de la misma en todas las tallas de perras, representando parámetros de utilidad en la estimación de la edad gestacional.

En la segunda mitad de la gestación, ante la posibilidad de identificar estructuras corporales fetales, el diámetro biparietal es el parámetro más utilizado para la predicción de la edad fetal (12, 14, 15, 16). Incluso según Nyland & Mattoon (17), este parámetro sería el predictor más exacto de la edad gestacional en la segunda mitad de la gestación.

El diámetro corporal fetal es también identificable más nítidamente durante la segunda mitad de la gestación (a partir del día 35). En el presente estudio, ambos diámetros fueron orientativos de la edad gestacional en perras de todos los tamaños incrementándose su valor progresivamente con la evolución de la preñez.

La longitud femoral fetal constituye un parámetro medible a partir del momento en que se hace visible el esqueleto (día 35 de gestación). A pesar de la existencia de pocos registros acerca de su utilización como predictor de edad gestacional canina, se encontró que el crecimiento de este hueso fue directamente proporcional al progreso de la gestación, lo que lo convierte en otra variable adicional de utilidad. De hecho, en la especie humana, la longitud femoral es frecuentemente utilizada en el monitoreo del desarrollo fetal en el segundo y tercer tercio de la gestación (17). En este trabajo la longitud femoral fue fácilmente medible a partir de preñez media en todos los tamaños de perras y se incrementó en gestación tardía con respecto a la media.

La frecuencia cardíaca fetal disminuyó

progresivamente con el transcurso de la preñez con un descenso más pronunciado en proximidad a la fecha de parto. Por lo tanto, representó un parámetro de utilidad de la inminencia del mismo y permitió evaluar la salud fetal, a fin de facilitar la toma de decisiones obstétricas.

Resta aún estudiar en un mayor número de animales los parámetros mencionados a fin de establecer los rangos normales para los tres tamaños de razas.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue parcialmente financiado por la Secretaría de Ciencia y Técnica (Universidad Nacional de La Plata, Argentina) V 141 a E.P. y C.G. Los autores agradecen a la empresa Vital can, por la provisión de alimento balanceado y parte de los animales experimentales.

## BIBLIOGRAFÍA

- Bondestam S, Alitalo I, Karkkainen M. Real-time ultrasound pregnancy diagnosis in the bitch. *Journal of Small Animal Practice*. 1983; 24: 145-151.
- Shille VM, Gontarek J. The use of ultrasonography for pregnancy diagnosis in the bitch. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1985; 187: 1021-1025.
- England GC, Allen WE. Studies on canine pregnancy using B-mode ultrasound: diagnosis of early pregnancy and the number of conceptuses. *Journal of Small Animal Practice*. 1990a; 31: 321-323.
- Ferguson JM. Pregnancy diagnosis in the bitch. *Veterinary Annual*. 1990; 30: 211-216.
- Johnston SD, Smith FO, Baile NC, Johnston GR, Feeney DA. Prenatal indicators of puppy viability at term. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*. 1983; 5: 1113-1125.
- Barr FJ. Pregnancy diagnosis and assessment of fetal viability in the dog: a review. *Journal of Small Animal Practice*. 1988; 29: 647-656.
- Concannon PW. Canine pregnancy and parturition. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 1986; 16: 453-475.
- Wildt DE, Chakraborty PK, Panko WB. Relationship of reproductive behavior, serum luteinizing hormone and time of ovulation in the bitch. *Biol Reprod*. 1978; 18: 561-570t.
- Feldman EC, Nelson RW. *Cap.I Canine and feline endocrinology and reproduction*. 1987. Philadelphia WB Saunders p 134.
- Holst PA, Phemister RD. Onset of diestrus in the Beagle bitch: definition and significance. *Am J Vet Res*. 1974; 35: 401-406.
- Helper LC. Diagnosis of pregnancy in the bitch with an ultrasonic Doppler instrument. *J Am Vet Med Assoc*. 1970; 156-160.
- Yeager AE, Mohammed HO, Meyer Wallen V, Vannerson L, Concannon PW. Ultrasonographic appearance of the uterus, fetus and fetal membranes

throughout accurately timed pregnancy in beagles. *Am Jour Vete Res.* 1992; 53: 342-351.

13. Kutzler MA, Yeager AE, Mohammed HO, Meyers-Wallen VN. Accuracy of canine parturition date prediction using fetal measurements obtained by ultrasonography. 2003; 60: 1309-1317.

14. Moriyoshi M, Waki Y, Nakao T, Kawata K. Observation of the growth process of a beagle embryo and fetus by ultrasound. *Journal of Veterinary Medical Science.* 1996; 58: 443-445.

15. Luvoni GC, Beccaglia M. The prediction of parturition date in canine pregnancy. *Reprod Domest Anim.* 2006; 41: 27-32.

16. England GC, Allen WE. Studies on canine pregnancy using B-mode ultrasound: development of the conceptus and determination of gestational age. *Journal of Small Animal Practice.* 1990b; 31: 324-329.

17. Nyland T, Mattoon J. Ultrasonography of the genital system. En: Nyland T, Mattoon J, editors. *Veterinary diagnostic ultrasound.* Philadelphia. WB Saunders Co; 1995. p. 141-164.

## EVALUACIÓN DE UN SISTEMA DE AISLADORES FLEXIBLES PARA EL MANTENIMIENTO DE RATONES INMUNODEFICIENTES

F Maschi, G Principi, S Milocco, JM Laborde,  
M Carriquiriborde, M Ayala, P Cagliada, Carbone C.

Cátedra de Animales de Laboratorio.  
Facultad de Ciencias Veterinarias  
Universidad Nacional de La Plata

**Resumen:** *En las últimas décadas los ratones inmunodeficientes se han convertido en un modelo indispensable para la investigación del cáncer. Estos animales tienen requerimientos especiales para su mantenimiento, por lo que se han desarrollado nuevas tecnologías para controlar su macro y microambiente. Una de ellas es el aislador flexible; éste es un receptáculo de PVC cerrado, en el cual pueden mantenerse los animales separados del ambiente general a través de la filtración absoluta del aire. El objetivo de este trabajo fue evaluar la eficiencia de un modelo de aislador armado en el Bioterio de la FCV – UNLP para el mantenimiento de ratones inmunodeficientes. Se montaron dos aisladores flexibles, ensamblando las cinco partes que componen cada uno. Se controlaron la hermeticidad y la esterilidad, se introdujeron los insumos necesarios y luego se incorporaron 12 ratones inmunodeficientes N:NIH(S)-nu libres de patógenos específicos. Se realizaron controles microbiológicos del ambiente y de los animales de acuerdo con un cronograma establecido. Los resultados demostraron que este sistema para mantener animales con necesidades ambientales especiales es eficiente.*

**Palabras clave:** Aislador, esterilización, ratón inmunodeficiente.

## VALIDATION AND ASSESSMENT OF A FLEXIBLE FILM ISOLATOR SYSTEM FOR THE MAINTENANCE OF IMMUNODEFICIENT MICE

**Abstract:** *In the last decades immunodeficient mice have become an indispensable animal model for cancer research. These animals have special housing requirements, for this reason new technologies that allow controlling their macro and microenvironment have been developed. One of these technologies is the flexible film isolator; this is a closed PVC chamber, in which the animals are able to live isolated from the outside environment by an absolute air filtration. The objective of this work was to evaluate the efficiency of an isolator built in the FCV – UNLP animal facility for the maintenance of immunodeficient mice. Two flexible isolators were set up by assembling their five main components. After leak proof and sterility were assured, the materials and twelve N:NIH(S)-nu SPF mice were introduced into the unit. A microbiological monitoring schedule was followed in order to control the animals and the isolator environment. The results have shown the efficiency of this equipment for the maintenance of animals with special environmental requirements.*

**Key words:** Flexible isolator, sterilization, immunodeficient mouse.

Fecha de recepción: 29/01/07

Fecha de aprobación: 20/08/07

---

**Dirección para correspondencia:** F. Maschi, Cátedra de Animales de Laboratorio. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. CC 296, (B1900AVW) La Plata. Argentina.

**E-mail:** [fmaschi@fcv.unlp.edu.ar](mailto:fmaschi@fcv.unlp.edu.ar)

---

## INTRODUCCIÓN

En las tres últimas décadas los ratones inmunodeficientes se han convertido en un modelo indispensable para la investigación, fundamentalmente del cáncer, ya que admiten el transplante de tumores humanos, pudiéndose investigar especialmente nuevos tratamientos (1, 2).

Estos animales, debido a las características de su sistema inmune, tienen requerimientos especiales para su mantenimiento, por lo que se han desarrollado distintas tecnologías para poder controlar su macro y microambiente de forma más segura y eficiente (1, 3, 4, 5). Una de estas alternativas es el uso de las denominadas unidades aisladoras flexibles. Un aislador flexible es, básicamente, un receptáculo de cloruro de polivinilo (PVC) cerrado, en el cual se pueden mantener los animales separados del ambiente general a través de la filtración absoluta del aire de entrada y de salida (6, 7).

Las primeras informaciones sobre el uso de aisladores se remontan a la década de 1940, pero recién a fines de los años 50, cuando se descubre la actividad esporocida del ácido peracético, comienza a tener desarrollo. Estos equipos no sólo sirven para alojar animales de experimentación inmunodeficientes sino también para mantener aquellos de condición microbiológica definida, transgénicos, libres de gérmenes, inoculados con microorganismos patógenos, los destinados a terapias medicinales; o cuando es necesario manipular sustancias radioactivas. En todos los casos el aislamiento, la esterilidad, el control de tóxicos y del ambiente son requisitos fundamentales para el desarrollo de estas investigaciones (7, 8). Actualmente en nuestro país no existen instituciones que utilicen este sistema.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la eficiencia de un modelo de aislador armado en el Bioterio de la FCV – UNLP para el mantenimiento de ratones inmunocomprometidos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se recibieron 2 cuerpos de aisladores flexibles donados por el CEMIB UNICAMP - Universidad Estadual de Campinas, Brasil. Cada cuerpo tiene un volumen interior de 0,54 m<sup>3</sup>, en el cual se pueden alojar 4 cajas de ratas de 20 x 30 x 45 cm ó 6 cajas de ratones de 13 x 13 x 30 cm.

Cada unidad aisladora tiene cinco componentes principales que se ensamblan: un cuerpo de PVC flexible transparente de 0,4 µm de espesor, dentro del cual se alojan los animales; un túnel de acceso de PVC rígido con dos tapas de cierre que delimitan el espacio que permite realizar la decontaminación y el ingreso de insumos y de animales; un par de guantes de goma o neopreno de mangas largas a través de los cuales se manejan los animales desde el exterior; un

motor eléctrico de 1/10 HP, 220 V que provee ventilación y presurización positiva a la unidad; y dos portafiltros cilíndricos de acero inoxidable con dos estructuras filtrantes absolutas (HEPA) a través de los cuales ingresa y egresa el aire (9). Esta unidad se montó sobre una base metálica a una altura de 80 cm.

Foto I - Aislador Flexible

Para el armado de los filtros de entrada y salida de aire se utilizó un cilindro metálico cribado envuelto con material filtrante, cuyas aberturas se sellaron con papel celofán para su esterilización por autoclave.

Foto II Sistema de filtros

Foto III Lana de vidrio (material filtrante)

Para ensamblar la unidad aisladora se conectó el motor de insuflación mediante mangueras al filtro y éste al cuerpo del aislador; el túnel de acceso también al cuerpo; y luego el filtro de salida. Una vez completado el armado se presurizó y se verificó la hermeticidad de la unidad. Para ello se pulverizó la superficie interna con una solución de amonio cuaternario con el objeto de detectar fugas a través de la observación de burbujas (7, 9, 10). Verificada la hermeticidad, se ingresaron las cajas y las rejillas para ratones, una plancha de goma para protección del piso del aislador y una pinza.

## ESTERILIZACIÓN

Utilizando una pistola eléctrica modelo CANE se pulverizó la parte interna del aislador y los insumos que se encontraban dentro, con una solución de ácido peracético (Oxidial) al 2% en agua destilada dejándolo actuar durante 24 horas. Luego se procedió a romper con la pinza el celofán protector de los filtros para comenzar a ventilar el aislador durante un día con el objeto de eliminar los residuos del ácido (7, 11, 12).

## VERIFICACIÓN DE LA ESTERILIDAD DEL AISLADOR

Luego de la pulverización con ácido peracético se verificó la esterilidad del aislador realizando un control microbiológico del interior del mismo. Se utilizaron los métodos de placa abierta y de hisopado de paredes para evaluar la presencia de mesófilos, coliformes, pseudomonas y hongos (13, 14).

En el caso del primero se colocaron en el interior del aislador durante 15 minutos tres juegos de placas, compuestos por: agar sangre base con la adición de 5 % de sangre de oveja desfibrinada (Britania), agar McConkey (Britania), agar cetrimide (Britania) y agar Sabouraud (Britania). Dos juegos sobre el piso en cada extremo y un tercer juego de placas en el piso del túnel de acceso. Todas se incubaron a 37 °C durante 24 horas, excepto el agar Sabouraud el cual se incubó de 5 a 7 días a temperatura ambiente (15, 16).



En el segundo método se tomaron las muestras de las superficies internas con hisopos estériles previamente humedecidos con PBS estéril. Los hisopos luego se sembraron en placas con los medios mencionados anteriormente, y se incubaron para su posterior recuento.

**REGULACIÓN DE PARÁMETROS MACROAMBIENTALES:**

**Flujo de aire:** La presión interna óptima de 10 mm de columna de agua, se estableció midiendo la diferencia entre el interior y el exterior del equipo a través de un manómetro.

**Temperatura:** La misma se reguló dentro de la sala de aisladores en un rango entre 22 y 25 °C controlándola con termómetros.

**Iluminación:** Se programó un ciclo de 12 horas luz/ 12 horas oscuridad mediante interruptores horarios.

Una vez confirmada la esterilidad de la unidad se introdujeron dentro de bolsas de PVC, a través de la doble puerta del túnel de acceso, los insumos autoclavados necesarios para el mantenimiento de los animales (alimento, agua, instrumental quirúrgico, viruta para lecho, tarjetas, lápices y bolsas para los desechos). Den-

tro del túnel se pulverizaron con la solución de ácido peracético, dejándolo actuar durante 24 horas, luego de las cuales ingresaron al interior del aislador.

Para comprobar la esterilidad de los insumos se utilizó un bioindicador (medio enriquecido de esporas del bacilo *G. stearotermophilus* 3M) que se colocó durante el proceso de autoclavado y luego se incubó a 37° C durante 24 - 48 horas (17).

Por último, se introdujeron 6 ratones inmunodeficientes N:NIH(S)- *nu/nu*, hembras de 4 semanas de edad, y 6 ratones inmunocompetentes N:NIH(S)- *+/nu*, hembras de 4 semanas de edad libres de patógenos específicos (SPF), en cuatro cajas dentro de una doble bolsa de PVC autoclavada. En el túnel se pulverizó la superficie externa de la bolsa con la solución de ácido peracético dejándola actuar durante 2 horas. Luego se retiró la bolsa externa e ingresaron al aislador

A los 30 días posteriores al ingreso se tomó una muestra compuesta por 4 ratones: 2 *nu/nu* y 2 *+/nu* para realizar el primer control microbiológico de acuerdo con el protocolo de rutina (18).

Durante la experiencia, el sistema se controló a través del siguiente cronograma de acuerdo con los métodos de rutina:

Tabla I. Control microbiológico por placa abierta.

Control microbiológico por placa abierta	Sangre		McConkey		Cetrimide		Sabouraud	
	IA	TA	IA	TA	IA	TA	IA	TA
Día 0 s/animales								
Día 10 s/animales								
Día 35 c/animales								
Día 65 c/animales								
Día 95 c/animales								
Día 125 c/animales								

IA: interior del aislador TA: túnel de acceso

Tabla II - Control microbiológico por hisopado

Control microbiológico Ambiente por hisopado	Hisopado piso	Hisopado techo	Hisopado pared
Día 0 s/animales			
Día 10 s/animales			
Día 35 c/animales			
Día 65 c/animales			
Día 95 c/animales			
Día 125 c/animales			

Tabla III. Control microbiológico animales

Control microbiológico animales	4 ratones por muestra
Día 0 ingreso animales	
Día 30	
Día 60	
Día 90	

Tabla IV. Resultados del control microbiológico por placa abierta

Control microbiológico por placa abierta	Sangre		McConkey		Cetrimide		Sabouraud	
	IA	TA	IA	TA	IA	TA	IA	TA
Día 0 s/animales	0	0	0	0	0	0	0	0
Día 10 s/animales	0	0	0	0	0	0	0	0
Día 35 c/animales	0	0	0	0	0	0	0	0
Día 65 c/animales	0	0	0	0	0	0	0	0
Día 95 c/animales	0	0	0	0	0	0	0	0
Día 125 c/animales	0	0	0	0	0	0	0	0

IA: interior del aislador TA: túnel de acceso

Tabla V. Resultados del control microbiológico por hisopado

Control microbiológico ambiente por hisopado	Hisopado piso	Hisopado techo	Hisopado pared
Día 0 s/animales	0	0	0
Día 10 s/animales	0	0	0
Día 35 c/animales	0	0	0
Día 65 c/animales	0	0	0
Día 95 c/animales	0	0	0
Día 125 c/animales	0	0	0



Foto I Aislador flexible.



Foto II. Sistema de Filtros



Foto III. Lana de vidrio. Material filtrante

Tabla I. Control microbiológico por placa abierta

Tabla II. Control microbiológico por hisopado

Tabla III. Control microbiológico animales

## RESULTADOS

Los controles microbiológicos de la unidad aisladora, tanto en el método de placa abierta como en el de hisopado fueron negativos. No se observó crecimiento de microorganismos mesófi-

Tabla VI. Resultados del control microbiológico de animales.

<b>Diagnóstico Bacteriológico</b>	<b>Día 0</b>	<b>Día 30</b>	<b>Día 60</b>	<b>Día 90</b>
<i>Salmonella</i> spp.	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4
<i>Escherichia coli</i> 0115a.c:K(B)	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4
<i>Corynebacterium kutscheri</i>	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4
<i>Pasteurella pneumotropica</i>	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4
<i>Pasteurella multocida</i>	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4
<i>Mycoplasma</i> spp.	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4
<i>Staphylococcus aureus</i>	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4

<b>Diagnóstico Serológico</b>	<b>Día 0</b>	<b>Día 30</b>	<b>Día 60</b>	<b>Día 90</b>
<i>Virus Sendai (HVJ)</i>	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4
<i>Virus hepatitis murina (MHV)</i>	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4
<i>Mycoplasma</i> spp.	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4
<i>Sialodacryoadenitis (SDA)</i>	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4
<i>Clostridium piliformis (Tizzer)</i>	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4
<i>Virus diminuto del ratón (MVM)</i>	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4
<i>Virus de la encefalomiелitis murina</i>	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4
<i>Corynebacterium kutscheri</i>	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4

<b>Diagnóstico parasitológico</b>	<b>Día 0</b>	<b>Día 30</b>	<b>Día 60</b>	<b>Día 90</b>
<i>Eimeria</i> spp.	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4
<i>Giardia muris</i>	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4
<i>Spiroucleus muris</i>	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4
<i>Syphacia obvelata</i>	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4
<i>Syphacia muris</i>	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4
<i>Myobia musculi</i>	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4
<i>Cysticercus fasciolaris</i>	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4
<i>Aspicularis tetraptera</i>	0 / 4	0 / 4	0 / 4	0 / 4

los en agar sangre, ni de coliformes totales en agar McConkey, *Pseudomonas* spp en agar cetrímide, ni hongos en agar Sabouraud.

En el caso de los controles microbiológicos de rutina realizados en los animales fueron todos negativos para los siguientes microorganismos:

## DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos demostraron que los animales mantuvieron su condición microbiológica inicial y no se contaminaron a lo largo de la experiencia (13, 14). Esto se debió a que

tanto el armado, montaje y controles de la unidad aisladora como el manejo de los animales y equipo por parte del personal fueron adecuados (8, 9, 11).

Se concluyó que las unidades aisladoras son un sistema eficiente para el mantenimiento de ratones inmunodeficientes. En nuestro país es posible contar con este tipo de tecnología. Asimismo es imprescindible que el personal esté bien entrenado para ejecutar en forma metódica y eficiente los procedimientos de trabajo (7, 9, 10).

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradecemos la colaboración de la Lic. Estela Rogers, Juan Cook y al personal del área de preparación de materiales del Bioterio por su intervención en la preparación de insumos.

## **BIBLIOGRAFÍA**

1. Carbone C, Maschi F. El ratón nude (nu/nu) como modelo animal de inmunodeficiencia. *Revista Química Viva*. Facultad de Farmacia y Bioquímica – UBA. 2006.
2. Hansen CT, Fogh J, Giovanella B. The nude gene and its effects. *The Nude Mouse in Experimental and Clinical Research*. Eds. New York: Academic Press. 1978; p.1-35.
3. CCAC [Canadian Council on Animal Care]. *Guide to the Care and Use of Experimental Animals*. 2nd ed. Ottawa Canada: CCAC. 1993.
4. Clark Derrel J. National Research Council. *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*. 1996; p. 22-48.
5. MacDonald HR, Blanc C, Lees RK, Sordat B. Abnormal distribution of T-cell subsets in athymic mice. *J. Immunol*. 1986; (136): 4337-4339.
6. Clough G. UFAW Handbook. *The animal House: design, equipment and environmental control*. UFAW. 1991; p. 108 – 143.
7. Coates ME, Gustafsson BE. *Germ Free Animals in Biomedical Research*. 1984; p. 11-48.
8. Ferrer Bazaga S, Martinez Escandell A. *SECAL – Animales de Laboratorio: Prevención de riesgos en la exposición a agentes biológicos*. 2003; p. 19-23.
9. Michael FW. Festing. *The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals*. Churchill Livingstone. 1976; p. 57 – 73.
10. Lawson T. *LAT Manual de entrenamiento*. American Association for Laboratory Animals Science. 2000.
11. Eaton P. UFAW Handbook. *Higiene in the animal House*. UFAW. 1991; p. 144 – 157.
12. Abraham G, Muschilli J, Middleton D, Richmond JY. *Animal experimentation in level 4 facilities. Anthology of Biosafety. V. BSL-4 Laboratories*. Mundelein IL: American Biological Safety Association. 2002; p. 343-359.
13. Bennett M., Parks S.R., & Dennis M.J. Containment testing of negative pressure isolators used to house laboratory animals infected with BL3 agents. *FELASA: Internationalisation and harmonization of laboratory animal care and use issues*. 2004; p. 137 -144.
14. Lipman N. S., Corning B. F., Saifuddin M. Evaluation of isolator caging systems for protection of mice against challenge with mouse hepatitis virus. *Laboratory Animals*. 1993; p. 134 – 140.
15. Carlberg D. *Cleanroom Microbiology for the Non Microbiologist*. Interpharm Press, Inc. Buffalo Grove, Illinois. 1995.
16. Clavell L, Pedrique de Aulacio M. *Microbiología. Manual de Métodos Generales* (2da edición). Facultad de Farmacia. Universidad Central de Venezuela. 1992.
17. Perkins Scott E, Neil S. Lipman. Characterization and Quantification of Microenvironmental Contaminants in Isolator Cages with a Variety of Contact Beddings. *Contemporary Topics*. 1995. (34) N° 5: 93 -97.
18. Riley Lela K. Development of a Performance Assessment Program for Research Animal Diagnostic Laboratories and Defining Microbiologic Testing Standards. *Microbial Status and Genetic Evaluation of Mice and Rats*. 1999; p. 7-13.
19. Cercos Augusto P. *Aves y mamíferos libres de germen*. Gnotobiología. Colección Científica del INTA. 1978. p. 49-130.

## MACRÓLIDOS: NOVEDADES DE UN CLÁSICO GRUPO DE ANTIMICROBIANOS

MF Lucas, N Mestorino, JO Errecalde

Cátedra de Farmacología, Farmacotecnia y Terapéutica.  
Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de la Plata.

**Resumen:** Los macrólidos son un grupo de antibacterianos caracterizados por la presencia de un anillo lactona macrocíclico como núcleo de su estructura química. Son agentes bacteriostáticos, aunque en determinados casos pueden tener acción bactericida. Presentan buena actividad frente a cocos aerobios grampositivos, algunos aerobios gramnegativos y ciertos microorganismos anaerobios. Los nuevos compuestos poseen mayor actividad contra bacterias "atípicas" e incluso espiramicina es activa frente a algunos protozoarios. En el pasado la resistencia frente a macrólidos fue poco relevante, sin embargo en la actualidad la situación es diferente y el estudio de mecanismos de resistencia ha cobrado mayor importancia. El perfil farmacocinético de estos compuestos se caracteriza por concentraciones plasmáticas relativamente bajas y tisulares altas. La integración farmacocinética/farmacodinámica (PK/PD) es un pilar fundamental para el diseño de planes terapéuticos racionales y para ello se debe conocer cuales son los parámetros a considerar en cada caso. En este artículo se hace una revisión de la estructura química y clasificación de los diferentes compuestos del grupo, espectro y mecanismo de acción, resistencia antibacteriana, farmacocinética y farmacodinamia, interacciones medicamentosas, toxicidad y efecto antiinflamatorio.

**Palabras clave:** Macrólidos, Estructura química, Acción antimicrobiana, Farmacocinética-Farmacodinamia, Efecto antiinflamatorio

## MACROLIDES: NEWS ABOUT A CLASSIC GROUP OF ANTIMICROBIALS

**Abstract:** Macrolides are a group of antibacterials characterized by the presence of a macrolide lactone ring, as the center of its chemical structure. They are bacteriostatic antibiotics; but in certain cases they can act as bactericidal compounds. They show good antibacterial activity against aerobic grampositive cocci, some aerobic gramnegative organisms and certain anaerobic microorganisms. New macrolides have a particular action against "atypical" bacteria and in some cases spiramycin acts as an antiprotozoal drug. In the past, resistance was considered almost irrelevant, nevertheless the present situation is different and studies about resistance are very important. The pharmacokinetic profile is characterized by low plasma concentrations but high tissue ones. Pharmacokinetic/pharmacodynamic integration (PK/PD) is the base for the design of rational therapeutic protocols so that is necessary to know the parameters that must be considered in each case. This article presents a revision of the chemical structure and classification of macrolides drugs, spectrum and mechanism of action, antibacterial resistance, pharmacokinetics and pharmacodynamic behaviour, drug interactions, toxicity and anti-inflammatory effect.

**Key words:** Macrolides, Chemical structure, Antimicrobial activity, Pharmacokinetic-Pharmacodynamic, Antiinflammatory effect.

Fecha de recepción: 01/09/06

Fecha de aprobación: 28/05/07

**Dirección para correspondencia:** Nora Mestorino, Cátedra de Farmacología. C.C. 296, (B1900AVW) La Plata, ARGENTINA.

**E-mail:** [noram@fcv.unlp.edu.ar](mailto:noram@fcv.unlp.edu.ar)

## INTRODUCCIÓN

Los macrólidos son una amplia familia de antibióticos naturales y semisintéticos obtenidos a partir de productos metabólicos del *Streptomyces* spp. (1). Fueron descubiertos en 1942 por Gardner y Chain, quienes describieron el primer compuesto del grupo, la pricomocina (2).

Diez años después, en los Laboratorios Eli Lilly, McGuire y colaboradores obtienen la ilotocina, posteriormente llamada eritromicina A (2, 3, 4). Fue aislada a partir de una cepa de *Streptomyces eruthraeus*, proveniente de una muestra de tierra recolectada en el archipiélago de las Filipinas (5). Los mismos investigadores realizaron las primeras observaciones *in vitro*, midieron los límites de toxicidad y demostraron la eficacia del fármaco en infecciones experimentales y causadas por cocos grampositivos (4).

Desde el descubrimiento de la Eritromicina se han sumado a la familia nuevos compuestos, con el objetivo de mejorar algunas deficiencias farmacocinéticas, el perfil de interacción de la droga y la intolerancia gastrointestinal (6). Sin embargo, en la actualidad la eritromicina sigue siendo el antibiótico tipo de la familia de los macrólidos (2, 7).

Modificando ligeramente la definición dada por Woodward en 1957 (8) se podría decir que los macrólidos (*macro*: grande y *olido*: lactona) son moléculas lipofílicas que poseen como centro de su estructura un anillo lactona de 12 a 16 átomos (8,9), pocas o ninguna ligadura doble y carecen de átomos de nitrógeno (9). El anillo lactona se encuentra unido por enlaces glucosídicos a desoxiazúcares aminados (7). La diferencia entre los compuestos de esta familia precisamente está dada por la cantidad de átomos que posee la molécula (10). Los compuestos con máximo potencial son aquellos con anillo 14-, 15- o 16-membrado, la mayoría de los cuales derivan de la eritromicina (1).

Se los considera agentes bacteriostáticos, aunque pueden ejercer efecto bactericida en determinadas condiciones. Actúan sobre la subunidad ribosomal 50S e interfirieren en la síntesis proteica (7). Son particularmente activos contra bacterias grampositivas y micoplasmas (7). Su actividad frente a anaerobios se considera favorable a buena, no siendo así frente a gramnegativos, los cuales generalmente presentan resistencia (1).

La eficacia de este grupo de fármacos contra infecciones humanas de creciente importancia ha estimulado el desarrollo de miembros con superior actividad antibacteriana, ventajas farmacocinéticas con respecto a la eritromicina y escasos efectos colaterales (1).

En medicina veterinaria los macrólidos de origen natural comúnmente utilizados son la eritromicina, la espiramicina y la tilosina (8). En los últimos años han aparecido en el mercado

nuevos macrólidos sintéticos de uso exclusivo en medicina veterinaria, la tilmicosina, sintetizada a partir de la tilosina (11) y la tulatromicina, derivada de los azálidos (12).

Entre las ventajas de los macrólidos podemos mencionar las altas concentraciones intracelulares alcanzadas, amplia distribución en el organismo, vida media prolongada y actividad contra importantes patógenos microbianos (1). La acumulación intracelular dentro de células fagocíticas es muy interesante, ya que puede generar un efecto inmunomodulante, observado en la mayoría de los macrólidos (1).

## ESTRUCTURA QUÍMICA Y CLASIFICACIÓN

La familia de los antimicrobianos macrólidos se caracteriza por poseer como núcleo molecular un anillo lactona macrocíclica multimembrado al cual se unen desoxiazúcares aminados (1, 3, 7, 8, 9, 10).

Todos los compuestos que poseen buena actividad antibacteriana, con excepción de los ketólidos, están formados por un anillo 14-, 15- o 16- membrado (3,7).

Se los clasifica de acuerdo al número de átomos que conforman el anillo, y cada grupo dentro de la familia posee características químicas y biológicas diferenciales. (3,13). A su vez pueden catalogarse según su origen en naturales y semisintéticos (7,11,13). De acuerdo a las dos clasificaciones mencionadas, se los agrupa de la siguiente manera:

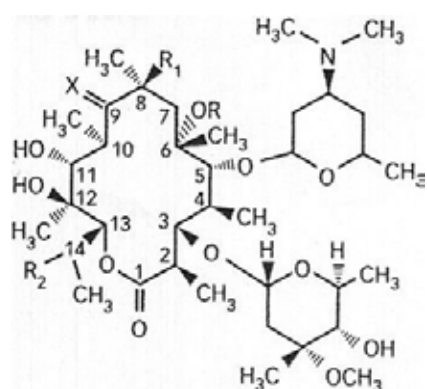
- Ø Macrólidos 14-membrados:
  - o Naturales: Eritromicina, oleandomicina
  - o Semi-sintéticos: Roxitromicina, diritromicina, fluritromicina y claritromicina
- Ø Macrólidos 15-membrados:
  - o Semi-sintéticos: Azitromicina (azálido), tulatromicina (triamilida)
- Ø Macrólidos 16-membrados:
  - o Naturales: Josamicina, espiramicina, kitasamicina, tilosina, midecamicina
  - o Semi-sintéticos: Rokitamicina, miocamicina (derivado de midecamicina) y tilmicosina (derivado de tilosina)

Uno o más desoxiazúcares aminados se encuentran unidos al anillo lactona por medio de enlaces glucosídicos para conformar la molécula (3, 7). La desosamina, uno de los aminoazúcares mencionados, funciona como una amina protonada, brindándole a la molécula carácter catiónico e incidiendo de manera relevante en su comportamiento farmacocinético (3). El otro aminoazúcar es la claudosina, cuya presencia afecta básicamente al perfil farmacodinámico del compuesto (3).

Los macrólidos son bases débiles altamente liposolubles y por lo tanto poco solubles en agua

(10). Poseen buena absorción desde el intestino, amplia distribución en el cuerpo, capacidad para penetrar barreras celulares y excreción hepática más que renal (7).

El núcleo de la **eritromicina** está constituido por **14 miembros** (Fig. 1) (14) al cual se unen cetonas y aminoazúcares (1, 10). Se caracteriza por ser inestable en medios ácidos como el contenido gástrico (pH 2) (9). En estas condiciones se produce una reacción interna (ketalización) entre los grupos 9-carbonil y 6- o 12- hidroxil que están presentes en la estructura de la molécula, conformando una unión espiroquetal (3, 9). Dicha unión, irreversible en condiciones fisiológicas, resulta en la formación de un derivado inactivo desde el punto de vista antimicrobiano, aunque activo como estimulante del peristaltismo (9).



**Figura 1:** Estructura química del anillo 14-membrado.

**Figure 1:** Chemical structure of the 14-membered ring.

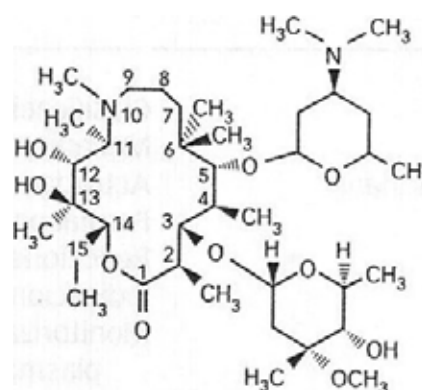
Muchos grupos de investigación a nivel mundial han trabajado en la síntesis de compuestos que posean similar acción antibacteriana pero mejor perfil farmacocinético con respecto a la eritromicina.

Con el objetivo de prevenir la inactivación, se han propuesto varias modificaciones en su estructura química (Tabla I) (14). Es así que los derivados sintéticos de la eritromicina poseen un anillo de 14 átomos pero carecen del grupo carbonil o son incapaces de formar la unión espiroquetal (3). En la estructura química de la roxitromicina, el grupo cetona fue reemplazado por una cadena lateral N-oxima y la diritromicina

posee en el mismo sitio un grupo amino como reemplazante (3). Por modificaciones químicas y bioconversión se obtuvo la fluritromicina que posee un átomo fluorado en posición 8 (9). En el caso de la claritromicina el grupo 6-hidroxilo fue sometido a una metilación, evitando así la formación del derivado espiroquetal y obteniendo un compuesto mucho más estable en el medio ácido (3, 9).

Azitromicina pertenece a un grupo de antibióticos semi-sintéticos denominados azálidos, obtenidos a partir de la eritromicina por el agregado de un átomo de nitrógeno endocíclico en posición 9 (3, 9). Los azálidos, poseen un anillo 15-membrado (Fig.2) (14) y se diferencian de la eritromicina por ser más estables a pH ácido y activos contra microorganismos gramnegativos, aunque han perdido en parte su actividad contra grampositivos (9). Presentan resistencia cruzada frente a determinados microorganismos como por ejemplo *Staphylococcus aureus* resistentes a la eritromicina (9).

Tulatromicina es un compuesto semi-sintético perteneciente a la subclase triamilida (12). La diferencia básica está en su estructura química, ya que presenta grupos aminos ligados a la misma (12).



**Figura 2:** Estructura química del anillo 15-membrado, Azitromicina.

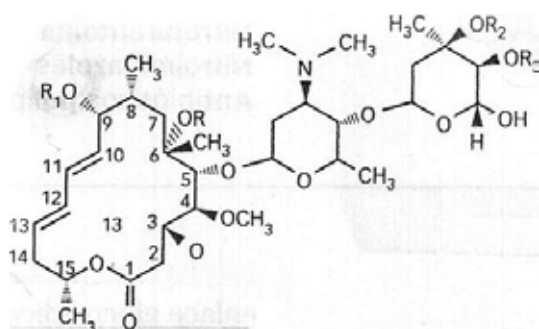
**Figure 2:** Chemical structure of the 15-membered ring, Azithromycin.

Los macrólidos compuestos por **16 miembros** (Fig.3) (14) son intrínsecamente estables en medio ácido ya que no poseen en su estructura química al grupo carbonilo.

**Tabla I:** Modificaciones en la estructura química de los macrólidos 14-membrados.

**Table I:** Chemical structure modifications of the 14-membered macrolides.

	X	R	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
<b>Eritromicina</b>	-O	-H	-H	-H
<b>Roxitromicina</b>	-NOH <sub>2</sub> O(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub>	-H	-H	-H
<b>Diritromicina</b>	-NHCHCH <sub>2</sub> O(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub>	-H	-H	-H
<b>Fluritromicina</b>	-O	-H	-F	-H
<b>Claritromicina</b>	-O	-CH <sub>3</sub>	-O	-H



**Figura 3:** Estructura química del anillo 16-membrado.

**Figure 3:** Chemical structure of the 16-membered ring.

## MECANISMO DE ACCIÓN

En el proceso de síntesis proteica se pueden diferenciar tres etapas: iniciación, elongación de la cadena polipeptídica y terminación (15). La etapa de elongación comprende, a su vez, tres fases: reconocimiento, transferencia y translocación (15). Luego de ser sintetizadas, varias cadenas polipeptídicas se asocian para formar una proteína, que luego atraviesa un proceso de plegamiento por el cual adquiere una configuración espacial determinada (15).

El ribosoma bacteriano tiene una estructura cuya constante de sedimentación es 70S y está constituido por dos subunidades (30S y 50S) (14). Los macrólidos se unen en forma reversible al sitio P, que se encuentra cerca del dominio V del componente 23S de la subunidad 50S (3,9) y del centro que contiene a la enzima peptidil-transferasa (3). Actúan inhibiendo la translocación durante la síntesis proteica bacteriana (3,7,9,15), acción que es específica sobre células procariotas gracias a la ausencia de subunidad 50S en eucariotas (3).

Se han podido determinar las proteínas que participan en la interacción macrólido-ribosoma, comprobando que la proteína L22 es el lugar de fijación para eritromicina, mientras que L27 permite la fijación de espiramicina (2). Estos hallazgos sugieren que diferencias estructurales de los macrólidos se reflejan en dianas ribosomales específicas (2).

Físicamente, los macrólidos se ubican a la salida del túnel por donde el péptido naciente escapa del ribosoma (3). Al interactuar grupos reactivos de la desosamina y el anillo lactona, se forman puentes de hidrógeno y el diámetro del túnel se ve reducido de 15 Å a 10 Å (3). Dicha interacción es determinante de la acción antimicrobiana y se sabe que el impedimento de la misma, sea por dimetilación de la adenina o reemplazo de la adenina por otra base, genera completa resistencia (3).

Como consecuencia de la ubicación de la molécula, se bloquea el pasaje de la cadena peptídica que está atravesando la fase de elongación.

Sin embargo, como el sitio está bastante alejado del centro donde se halla la enzima peptidil-transferasa, algunos polipéptidos cortos logran ser sintetizados (3).

Efectos indirectos de la unión de los macrólidos al ribosoma son: fomento de la disociación del peptidil-ARNt del ribosoma, interferencia en el ensamblaje de la subunidad 50S e impedimento en la formación de la unión peptídica (3). Este último punto es muy importante en el caso de los derivados semisintéticos 16-membrados que poseen una mayor extensión de la desosamina. Dicha extensión puede protruir sobre el sitio donde se ubica la enzima peptidil-transferasa e inhibir la ubicación del sustrato en el sitio P (3).

La interacción de la cladinosa con el ribosoma no ha sido estudiada en detalle. Sin embargo se cree que actúa como reforzador de la unión del antibiótico con el sitio target, ya que al ser removida se observa una disminución en la actividad antibacteriana (3).

## ESPECTRO DE ACTIVIDAD

Los macrólidos son activos frente a aerobios grampositivos, tales como *Bacillus* spp., *Corynebacterium* spp., *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Listeria* spp. y especialmente *Staphylococcus* spp. y *Streptococcus* spp. (1,2,13). Sin embargo presentan resistencia algunas cepas de *Streptococcus* spp. y los *Staphylococcus aureus* meticilino-resistentes (2). Poseen escasa actividad frente a *Staphylococcus coagulans* negativos y *Streptococcus* grupo D, por lo que no son antibióticos de elección en este tipo de infecciones (2).

Entre los aerobios gramnegativos susceptibles se pueden citar los siguientes generos: *Actinobacillus*, *Brucella*, *Campylobacter*, *Haemophilus* y *Leptospira*. También son sensibles algunos microorganismos anaerobios como: *Actinomyces* spp, *Bacteroides* spp (excepto *B. fragilis*), *Clostridium* spp., algunos *Fusobacterium* y cocos anaerobios (1).

Sin embargo, los Enterococos, *Bordetella* spp, *Legionella* spp., *Ehrlichia* spp. y *Pasteurella* spp. presentan susceptibilidad moderada frente a los macrólidos (1).

Espiramicina consigue buenos resultados incluso frente a algunos protozoos (2). En pacientes humanos, se la emplea en el tratamiento de la toxoplasmosis aguda, por lo que podría ser útil en casos de criptosporidiosis (1).

Los nuevos macrólidos son particularmente activos frente a bacterias llamadas "atípicas" como *Mycoplasma* spp., *Chlamydia* spp. y *Legionella* spp. (2,13). Azitromicina posee una excelente actividad contra los géneros *Bartonella*, *Borrelia*, *Brucella*, *Campylobacter*, *Chlamydia*, *Legionella*, *Leptospira*, *Mycoplasma*, miembros de *Spirochaetaceae* y *Ureaplasma*. Las micobacterias, como *Mycobacterium avium*, a menudo



tienen susceptibilidad moderada y la actividad contra bacterias anaerobias es variable (1).

Las bacterias resistentes incluyen las enterobacterias, *Pseudomonas* spp., *Nocardia* spp., *Mycoplasma* spp., *Chlamydia psittaci* y *Mycobacterium* spp. (excepto *M. kansasii*) (1).

## RESISTENCIA

Cuando un antibiótico no ejerce su acción bactericida en forma rápida y efectiva, existe la posibilidad de que sean seleccionadas subpoblaciones menos susceptibles, bacterias que hayan adquirido mecanismos de resistencia (normalmente provenientes de flora comensal) o que hayan mutado (9).

Los macrólidos en general no son bactericidas y por muchos años la resistencia fue considerada poco importante y solo relevante en el caso de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus coagulasa* negativos (3). Estos microorganismos actuaron como reservorios de determinantes de resistencia, tales como *erm(A)* y *erm(C)*, y colaboraron con la expansión de resistencia entre distintas especies bacterianas (3). La utilización masiva de macrólidos fue la principal causa de diseminación de resistencia entre agentes causales de infecciones rutinariamente tratadas con estos agentes, así como en varios miembros de la familia *Enterobacteriaceae* (3).

La resistencia de los gérmenes frente a los macrólidos se produce por diferentes mecanismos. Algunos bacilos gramnegativos son resistentes por incapacidad del medicamento para penetrar en los sitios receptores (3). En otras oportunidades, en microorganismos sensibles, la resistencia se produce por mutación o determinantes cromosómicos y otras veces es mediado por plásmidos (1,10).

Dentro de los diferentes mecanismos de resistencia a macrólidos, podemos mencionar:

1. Modificación del sitio blanco:
  - Metilación del ARNr
  - Mutación del ARNr 23S
  - Mutación de las r-proteínas
2. Síntesis de pequeños péptidos
3. Inactivación enzimática
4. Eflujo activo

La metilación del ARN ribosómico es actualmente el mecanismo de mayor prevalencia entre microorganismos patógenos (16). Está mediado por la adquisición de un gen *erm* que codifica para la formación de una enzima capaz de metilar la adenina N(6) ubicada en el componente 23S ribosomal (17). Existen más de 30 genes *erm* descriptos y aparentemente todos provienen de un ancestro común (17).

La monometilación confiere baja resistencia a macrólidos pero alta a lincosamidas y estreptograminas; mientras que la dimetilación

confiere alta resistencia a los tres tipos de antibióticos (3).

La expresión de la metilasa puede ser constitutiva o inducible y se sabe que los macrólidos 14-, 15- y 16- membrados actúan como factores inductores (3). Sin embargo, el mecanismo por el cual se produce la inducción no está claro.

La sustitución de la adenina 2058 por guanina es la mutación del componente 23S ribosomal más frecuente entre bacterias patógenas (18). Como consecuencia de esta sustitución se inhibe la unión de la desosamina con el sitio diana, formándose una zona hidrofílica en el túnel que perturba el posicionamiento del macrólido, que es hidrofóbico (3). Este mecanismo define la resistencia ML (macrólidos-lincosamidas), caracterizada por altas concentraciones inhibitorias mínimas (CIMs) frente a eritromicina, azitromicina, macrólidos 16-membrados y lincosamidas; y por susceptibilidad reducida frente a claritromicina, aunque no influye en la acción frente a estreptograminas y ketólidos (3).

Las mutaciones a nivel proteico (L4 y L22) han sido asociadas a la aparición de resistencia clínica en cepas de *Streptococcus* en medicina humana (19). Mutaciones en la proteína L4 perturban la unión del macrólido al sitio diana y confieren resistencia MS<sub>B</sub> (macrólidos-estreptograminas), que se caracteriza por CIMs bajas. Mutaciones en la proteína L22, que forma parte del túnel de salida, producen un ensanchamiento del orificio de salida y confieren resistencia de bajo nivel (3).

En el caso de la síntesis de pequeños péptidos, el mecanismo de resistencia propuesto indicaría que el ribosoma produce un péptido corto, aún en presencia de macrólidos, y dicho péptido se une a la molécula antibiótica alejándola del sitio de unión al ribosoma y permitiendo que el mismo continúe con la síntesis proteica (3). Aún no se ha descrito la emergencia de este mecanismo de resistencia en aislamientos clínicos.

La inactivación enzimática afecta solo a antibióticos relacionados estructuralmente, por lo tanto confiere resistencia a macrólidos pero no a lincosamidas y estreptograminas a la vez (3). Han sido reportadas fosforilasas y estererasas capaces de proporcionar resistencia frente a macrólidos de 14-, 15-, y 16-miembros (20). Dichas enzimas fueron halladas en especies de la familia *Enterobacteriaceae* y son poco importantes desde el punto de vista clínico ya que este tipo de bacterias no son dianas de los macrólidos (20). También han sido aisladas cepas de *Staphylococcus aureus* productoras de fosfotransferasas, lo que sugiere que este mecanismo puede ser una amenaza importante para futuro (21).

Las bombas de eflujo tienen un amplio espectro de sustratos, por lo que frecuentemente están presentes en fenotipos multiresistentes

(22). Es probable que la expresión de bombas transportadoras de macrólidos sea responsable de resistencia constitutiva en varias bacterias gramnegativas (22). En bacterias grampositivas han sido descritos dos tipos de bombas, transportadores ABC ("ATP-Binding Cassette") y MFS ("Major Facilitator Superfamily") (22), que a diferencia de lo que sucede con las de las gramnegativas, son inducibles y de espectro limitado (3).

## FARMACOCINÉTICA

Los macrólidos difunden fácilmente y se absorben bien por vía oral (3). La eritromicina base es altamente susceptible a la degradación por el ácido gástrico y por ello requiere de una cobertura entérica protectora (1). Además, la presencia de alimento en el tracto gastrointestinal puede modificar la absorción, en mayor o menor grado, dependiendo de la formulación antibiótica (3).

Una de las propiedades más relevantes de los macrólidos es su gran volumen de distribución (1,3). Se concentran en tejidos y son capaces de acumularse dentro de células eucariotas (1,3). El mecanismo de acumulación probablemente consista en la difusión de la forma no protonada a través de la membrana y el atrapamiento de la forma protonada (menos difusible) dentro de compartimientos celulares con pH ácido, tales como los lisosomas (3). Esto explica por qué una molécula dibásica como la azitromicina tiene una capacidad de acumulación aún mayor (3). Como consecuencia del gran volumen de distribución, las concentraciones halladas en plasma sanguíneo son generalmente bajas, pudiendo limitar la eficacia antimicrobiana. Por el contrario, las concentraciones tisulares y celulares alcanzadas son altas, siendo una gran ventaja para el tratamiento de infecciones localizadas a este nivel (3).

La penetración de estos compuestos en el sistema nervioso central es limitada y solo se alcanzan concentraciones bajas que no superan los valores terapéuticos (1,3).

Los macrólidos son metabolizados a nivel hepático por el sistema de citocromo P450 (3). Por este motivo existen numerosas interacciones medicamentosas en las que están involucrados estos compuestos.

La eliminación es principalmente biliar (1,3), aunque también hay pérdida por materia fecal y orina (1). En el caso de eritromicina, la excreción urinaria es muy baja (1), pero claritromicina tiene un porcentaje significativamente mayor (3). Azitromicina es eliminada muy lentamente, probablemente por la retención a nivel celular o la unión estrecha a fosfolípidos (3).

## FARMACODINAMIA

Desde el punto de vista farmacodinámico, los agentes antimicrobianos pueden ser divididos

en tres grupos: a) antibióticos bactericidas que dependen de la concentración; b) bactericidas dependientes del tiempo y c) bacteriostáticos (3). Andes & Craig (1998) los divide en acción a) concentración dependientes, b) tiempo dependientes con mínima persistencia y c) tiempo dependientes con persistencia prolongada (23).

Los macrólidos tienen la particularidad de no pertenecer a una sola categoría (24). En principio se consideran tiempo-dependientes, es decir que su eficacia clínica depende del intervalo de tiempo durante el cual la concentración en el sitio de acción esté por encima de la concentración inhibitoria mínima calculada para el agente infeccioso (3,23). Esto implica que el diseño de planes terapéuticos racionales se debe hacer en base al parámetro  $T > CIM$ , y que el principal objetivo es evitar que la concentración caiga por debajo de la CIM durante el intervalo entre dosis. Esta situación quedó demostrada en el caso de eritromicina (24,25) y puede ser justificada por la acción esencialmente bacteriostática y porque la actividad será mantenida en la medida que las moléculas antibióticas estén unidas al ribosoma (3). Estudios realizados en animales sugieren que un  $T > CIM$  aproximado al 50% del intervalo entre dosis, es suficiente para alcanzar la máxima actividad antimicrobiana (9).

Sin embargo estudios experimentales han demostrado que para la eficacia clínica de claritromicina y azitromicina, no solo influye la relación  $T > CIM$ , sino que se debe considerar también la relación  $ABC_{24hs} / CIM$  (área bajo la curva concentración en función del tiempo/ $CIM$ ) (24,25), parámetro directamente gobernado por la dosis diaria total administrada (24). Incluso algunos autores consideran que tanto azitromicina como claritromicina, presentan acción dependiente de la concentración y que  $C_{max} / CIM$  es el parámetro que mejor predice su comportamiento (26).

Se sabe que los macrólidos actúan como bacteriostáticos. Sin embargo, pueden actuar como bactericidas dependiendo de su concentración, de la densidad microbiana a la que se enfrentan, de la fase de proliferación y de la susceptibilidad de la cepa involucrada (3,4). En términos generales son antimicrobianos considerablemente lentos para producir efecto bactericida, en caso de que logren ejercerlo.

Además del efecto directo sobre el agente patógeno, algunos compuestos han demostrado poseer efectos prolongados sobre el crecimiento bacteriano. Así podemos hablar de:

1) efecto post-antibiótico (EPA): Es el tiempo necesario para que un cultivo bacteriano que estuvo en contacto con concentraciones antibióticas superiores a la CIM determinada para dicho microorganismo, reinicie su crecimiento una vez que deja de contactar con el antimicrobiano (23).

2) efecto post-antibiótico de concentración-

nes subinhibitorias (EPACS): Está demostrado que concentraciones de antibiótico que no superan la CIM pueden comprometer el crecimiento bacteriano, modificar los factores de virulencia y afectar la capacidad del patógeno de producir enfermedad (13).

3) efecto post-antibiótico leucocitario (EPAL): Se describe como el incremento de la susceptibilidad bacteriana a la fagocitosis y destrucción intracelular luego de la exposición al fármaco (27).

El EPA es uno de los parámetros farmacodinámicos más importantes y más estudiados. Puede ser resultado de los daños bacterianos no letales causados por el antibiótico que se encuentra persistentemente unido al sitio blanco o que va siendo liberado de sitios de unión tisulares (24). Los macrólidos, en general, poseen un EPA corto que puede extenderse desde unos pocos minutos a un máximo de dos horas *in vitro* (3). El tiempo requerido va a depender de la concentración del antibiótico, de su mecanismo de acción y del microorganismo involucrado (24).

La principal pauta a tener en cuenta al idear un protocolo terapéutico racional basado en el uso de macrólidos es repetir las dosis a intervalos cortos con el objetivo de mantener las concentraciones por encima de la CIM durante la mayor cantidad de tiempo posible (24,28).

La azitromicina posee un perfil farmacocinético particular y un prolongado efecto persistente (20). Su actividad se correlaciona mejor con la relación  $ABC_{24hs}/CIM$  que con el  $T > CIM$ , ya que a diferencia de los otros macrólidos presenta un marcado EPA *in vivo* (24).

El valor de  $ABC_{24hs}$  es proporcional a la dosis diaria total administrada, y cuando corresponde, a la biodisponibilidad de la molécula (24). Por lo tanto, en el caso particular de azitromicina, la premisa sería incrementar la cantidad de fármaco administrado diariamente, ya sea por aumento de la dosis o el número de dosis diarias (24).

El efecto sub-CIM es aquel que se da cuando las concentraciones de antibióticos que se encuentran por debajo de la CIM pueden afectar el crecimiento y la expresión de una variedad de factores de virulencia que comprometen la capacidad del patógeno de causar la enfermedad (13). Es un factor difícil de integrar en el diseño de los planes terapéuticos, ya que favorece la exposición de microorganismos a concentraciones subóptimas y puede actuar en pro del desarrollo de resistencia (3). Sin embargo, se debe tener en cuenta, pues a la vez que las concentraciones en distintos compartimentos del organismo van disminuyendo, puede cobrar importancia el efecto sub-CIM.

Existen estudios que demuestran que concentraciones de macrólidos menores a la CIM afectan mecanismos bacterianos tales como: ad-

herencia a las células epiteliales, elaboración de toxinas, producción de exoenzimas, movilidad y sensibilidad a componentes séricos (13). Además los macrólidos causan daños a nivel ultraestructural en las bacterias y actúan conjuntamente con los leucocitos para lograr eficacia clínica (13). El mecanismo por el cual se dan todos estos eventos es, en mayor o menor medida, la acción inhibitoria sobre la síntesis proteica bacteriana (13).

Los macrólidos tienen la capacidad de concentrarse a nivel intracelular, principalmente dentro de macrófagos y leucocitos polimorfonucleares (14)

En el interior de las células se ubican en los lisosomas, dentro de los cuales se concentran por atrapamiento iónico (3). La forma no ionizada es la única que posee actividad antibacteriana (13), por lo tanto la alta concentración de antibiótico intralisosomal no es garantía de actividad antibacteriana. Probablemente existan factores moduladores capaces de incrementar o disminuir la actividad antibiótica a ese nivel. Estos factores posiblemente se deban a la alteración de la susceptibilidad bacteriana, modificaciones en la actividad o diferente biodisponibilidad del fármaco en los distintos compartimentos subcelulares (13). Por ejemplo, puede darse la ausencia de actividad debido a cambios en el pH cuando los macrólidos ingresan al lisosoma cuyo pH interno es ácido (13). Se sabe que estos antibióticos pierden aproximadamente 90% de su actividad por cada unidad de pH que disminuye (13).

También se cree que el acúmulo de macrólidos dentro de leucocitos puede incrementar el rendimiento de los mecanismos asociados a la inmunidad celular. Los glóbulos blancos, principalmente neutrófilos, macrófagos y monocitos, acumulan moléculas de antibiótico en sus lisosomas y los transportan por respuesta quimiotáctica, al sitio de la infección (13,29).

Por lo tanto, los antibióticos no solo necesitan penetrar la célula eucariota y alcanzar dentro de esta al microorganismo patógeno, también necesitan conservar su actividad a dicho nivel.

## INTERACCIONES MEDICAMENTOSAS

El principal mecanismo involucrado en la interacción medicamentosa es la habilidad de los macrólidos de unirse a la enzima citocromo P450, interfiriendo en el normal metabolismo de otros fármacos y sustancias (3). De esta manera generan un riesgo potencial de toxicidad por el acúmulo de los fármacos co-administrados que no serán normalmente metabolizados. Por el contrario, la co-administración de macrólidos con inductores del citocromo P450 puede provocar reducción en las concentraciones plasmáticas del antibiótico y desembocar en falla terapéutica o selección de cepas resistentes (3).

Otros antibióticos que inhiben la síntesis proteica a nivel de la subunidad 50S son el cloramfenicol y la lincomicina (9,15). Dado que los sitios de unión se superponen entre sí, existe antagonismo farmacológico (1,3) y resistencia cruzada entre compuestos pertenecientes a cualquiera de estos tres grupos (3).

Actualmente se sabe que los macrólidos son inhibidores de la glicoproteína P. Esta glicoproteína es una bomba de flujo presente en células eucariotas que regula y limita la resorción intestinal de algunos fármacos (3). Este mecanismo explica porque los macrólidos pueden producir incremento en el nivel sérico de algunos fármacos, por ejemplo digoxina (3).

## TOXICIDAD Y EFECTOS ADVERSOS

Por muchos años los macrólidos han sido considerados antibióticos relativamente seguros (1,3). Sin embargo, en la actualidad el perfil de toxicidad parece ser menos favorable de lo que se creía originalmente.

Pueden generar trastornos gastrointestinales (náuseas, vómitos, diarrea, dolor intestinal) relacionados con la dosis en la mayoría de los animales y en el hombre (1,3). Probablemente sean causados por estimulación del músculo liso gastrointestinal, ya que la eritromicina actúa como agonista de la motilina (3). Estos efectos no son preocupantes en medicina veterinaria, excepto en el equino en donde los macrólidos podrían generar una diarrea grave (1).

En medicina humana se han dado casos de hepatitis colestásica por el uso de eritromicina. Sin embargo, la hepatotoxicidad es un efecto adverso muy serio, pero raramente observado y se da en adultos que han recibido tratamiento durante una a dos semanas (3).

Eventualmente pueden darse casos de ototoxicidad, aunque se cree que este efecto está subestimado en el hombre (3). Es lógico pensar que en medicina veterinaria no será detectado a menos que los daños causados sean realmente severos.

Se han documentado efectos adversos de varios macrólidos sobre el sistema cardiovascular (3), pero con dosis muy superiores a las terapéuticas y en sujetos con compromiso cardíaco o con función renal alterada.

Raramente se reportan casos de reacciones alérgicas en el hombre. Los signos (eosinofilia, fiebre y erupción cutánea), desaparecen con la suspensión del tratamiento antibiótico (3). En medicina veterinaria se debe tener especial cuidado al administrar antibióticos macrólidos en forma intramuscular debido a que son irritantes y pueden producir inflamación con intenso dolor (1). También se da el caso de tromboflebitis y periflebitis después de una inyección intravenosa, y reacción inflamatoria después de la adminis-

tración intramamaria (1).

## EFECTO ANTIINFLAMATORIO

Los primeros cuestionamientos sobre la posibilidad de que los macrólidos pudiesen atenuar la respuesta inflamatoria surgieron en los años 70 (29). Actualmente existe creciente evidencia de que, además de su actividad antibacteriana, los macrólidos de 14 y 15 miembros pueden actuar como agentes antiinflamatorios e inhibidores de determinados factores de virulencia bacterianos (3).

El mecanismo de acción por el cual ejercen estos efectos está aún bajo investigación. Sin embargo, por su efecto antiinflamatorio sustancial, la eritromicina ya se emplea en medicina humana para tratar enfermedades respiratorias crónicas (1).

Los datos recolectados de ensayos *in vitro* refuerzan la hipótesis de una acción directa de los macrólidos sobre la función de los neutrófilos y de que son capaces de reducir la producción y/o secreción de citoquinas por parte de neutrófilos y células epiteliales (29). Además, este grupo de antimicrobianos produce inhibición de las reacciones oxidativas en macrófagos y neutrófilos, reducción de la adhesión de neutrófilos a la superficie epitelial, e inhibición de su degranulación y muerte apoptótica (1,29).

La reducción en la producción de citoquinas esta relacionada con la inhibición de la activación del factor de transcripción NF<sup>°</sup>B, esencial para la síntesis de interleucina tipo 8 (IL-8) por parte del epitelio bronquial y determinante de la expresión de otras citoquinas que influyen en la migración de neutrófilos hacia el sitio de la infección (IL-1, IL-6 y TNF) (3,29). Por el contrario, la producción de IL-10 y probablemente también de IL-4, se ven aumentadas (29).

De los ensayos *in vivo* reportados, se podría especular con una acción de potenciación de la respuesta inmune cuando se administran macrólidos durante un tiempo relativamente corto; mientras que tratamientos a largo plazo derivarían en inmunosupresión (29).

Aunque no todos los macrólidos fueron evaluados, solo eritromicina A y sus derivados han demostrado poseer estas propiedades antiinflamatorias (29).

## CONCLUSIONES

Desde el descubrimiento de la Eritromicina en 1942, numerosos compuestos han aparecido en el mercado. Antibióticos como tilmicosina y tulatromicina, fueron desarrollados para uso exclusivo en medicina veterinaria.

El comportamiento farmacocinético del grupo y su espectro de acción han sido características muy valoradas, tanto por los veterinarios clínicos como por la comunidad científica. La

penetración intracelular y las posibles ventajas de la misma, han incrementado el interés sobre estas moléculas, principalmente apuntando al tratamiento de microorganismos de supervivencia intracelular.

Debido al aumento en el uso de macrólidos para el tratamiento de enfermedades infecciosas en medicina humana y veterinaria, ha cobrado importancia la resistencia de algunas especies bacterianas a estos antibióticos. Por lo tanto, debemos apuntar al estudio de la relación farmacocinética/farmacodinámica para lograr una óptima utilización de estos antibióticos en pro de mejorar la eficacia clínica y reducir al mínimo la presión de selección de cepas resistentes.

Con respecto al perfil farmacocinético, los macrólidos presentan un gran volumen de distribución, se concentran a nivel tisular y son capaces de acumularse dentro de células eucariotas. El sitio específico de ubicación de los macrólidos en las células es el interior de los lisosomas. Sin embargo, no existe un conocimiento acabado de la cinética intracelular de estos compuestos y se discute si conservan su acción antibacteriana a pH intralisosomal.

Son considerados antibióticos tiempo dependientes y por ello el parámetro que mejor se correlaciona con la eficacia clínica es el porcentaje de tiempo, del intervalo entre las dosis, durante el cual la concentración se encuentra por encima de la CIM. Sin embargo, algunos compuestos del grupo (ej: claritromicina) han demostrado que el parámetro que mejor se correlaciona con la eficacia clínica es la relación  $ABC_{24hs}/CIM$ , e incluso se llegó a considerar a estos antibióticos como concentración dependientes.

Por lo expuesto en la presente revisión, es muy difícil agrupar a todos los compuestos de la familia bajo un mismo comportamiento PK/PD. Si a ello añadimos la problemática del desconocimiento acerca del comportamiento intracelular, llegamos a la conclusión de que las recomendaciones para el uso de los mismos deberán realizarse individualmente para cada compuesto y para cada situación.

El descubrimiento del efecto antiinflamatorio y de la capacidad de modular la virulencia bacteriana agrega mayor complejidad al estudio de los mecanismos de acción. Actualmente numerosas investigaciones apuntan a esclarecer la función antiinflamatoria de los macrólidos. Es probable que, conociendo la estructura molecular involucrada, se descubran nuevas moléculas que conserven dicha función sin poseer actividad antibiótica y viceversa. Sin embargo, se deberá evaluar cuál es la interacción, si existe, entre el efecto antibacteriano y el antiinflamatorio.

Si bien seguimos considerando a los macrólidos herramientas sumamente útiles para la terapia antibacteriana, creemos que aún queda

mucho por descubrir acerca de su comportamiento farmacocinético y farmacodinámico. En la medida en que se avance en el estudio de los parámetros que describen estas características, podrá optimizarse el uso de los mismos y limitar el avance de la resistencia antibacteriana.

## BIBLIOGRAFÍA

- 1- Prescott JF. (2002) Lincosamidas, macrólidos y pleuromutilinas. En: Prescott JF, Baggot JD, Walter RD (eds): *Terapéutica Antimicrobiana en Medicina Veterinaria* (3ª Ed) Argentina, Ed. Intermédica, p. 204-232.
- 2- Giner Almaraz S, Canós Cabedo M, Rodilla Calvelo F, Ferrer Gómez C. (1995) Nuevos macrólidos ¿Superan a la Eritromicina?. *Farm Hosp* 19 (5): 59-265.
- 3- Mulazimoglu L, Tulkens PM, Van Bambeke F. (2005) Macrolides. In: Yu VL, Edwards G, McKinnon PS, Peloquin C and Morse GD (eds), *Antimicrobial Therapy and Vaccines, Volume II: Antimicrobial Agents* (2<sup>nd</sup> Ed) Pittsburg, ESun Technologies, p. 243-280.
- 4- Kapusnik-Uner JE, Sande MA, Chambers, HF. (1996) Fármacos antimicrobianos: Tetraciclinas, clo-ranfenicol, eritromicina y diversos antibacterianos. En: Hardman JG, Limbird LE, Molinoff PB, Ruddon RW, Goodman Gilman A (eds): *Las bases farmacológicas de la terapéutica. Vol II* (9ª Ed) México, Ed. McGraw-Hill Interamericana, p. 1205-1211.
- 5- McGuire JM, Bunch RL, Anderson RC, Boaz HE, Flynn EH, Powell HN, Smith JW. (1952) Ilotycin, a new antibiotic. *Antibiot Chemother.* 2; 281-283.
- 6- McConnell SA (1999) Review and Comparison of Advanced-Generation Macrolides Clarithromycin and Dirithromycin. *Pharmacotherapy Publications.* 19(4):404-415.
- 7- Sádaba B, Azanza JR. (2005) Antibióticos macrólidos y otros antibióticos. En: Leza Cerro JC, Lizasoain Hernández I, Lorenzo Fernández P, Moreno González A, Moro Sánchez MA (eds): *Velásquez Farmacología básica y clínica* (20ª Ed) Buenos Aires, Ed. Panamericana, p. 825-839.
- 8- Renard L. (1994) Modelisation de la relation pharmacocinetique-pharmacodynamie en antibiotherapie veterinaire (these pour le diplôme d Docteur de L'Universite de Limonges, specialite : Sciences pharmaceutiques) ; Faculte de Pharmacie, Universidad de Limonges.
- 9- Bryskier A, Agouridas C, Chantot JF. (1993) Structure and activity. In: Neu HC, Young LS, Zinner SH (eds): *The new macrolides, azalides and streptogramins, pharmacology and clinicals applications.* USA, Ed. Marcel Dekker, p. 3-8.
- 10- González-Piñera J, Barreto Penié J, Rodríguez Rodríguez MA, Pino Alfonso PP, Lim Alonso N. (1998) Macrólidos. *Acta Médica.* 8 (1): 71-74.
- 11- Mestorino ON, Errecalde JO. (2004) Tilmicosina: un nuevo antibiótico macrólido de uso veterinario. *Analecta Veterinaria,* 24 (2): 21-28.
- 12- Letavic MA, Bronk BS, Bertsche CD. (2002) Synthesis and activity of a novel class of tribasic macrocyclic antibiotics: the triamilides. *Bioorg Med Chem Lett,*

12:2771-2774.

13- Shryock TR, Mortensen JE, Baumholtz M. (1998) The effects of macrolides on the expression of bactericidal virulence mechanisms. *J Antimicrob Chemother.* 41:505-512.

14- Gómez-Lus ML, Calvo A, Bouza E, Prieto J. (2005) Quimioterapia antiinfecciosa y antitumoral: Antibióticos y quimioterápicos. Generalidades. En: Leza Cerro JC, Lizasoain Hernández I, Lorenzo Fernández P, Moreno González A, Moro Sánchez MA (eds): *Velásquez Farmacología básica y clínica* (20ª Ed) Buenos Aires, Ed. Panamericana, p. 825-839.

15- Willett HP. (1994) Agentes antimicrobianos. En: Wolfgang KJ, Willett HP, Amos DB, Wilfert CM (eds): *Zinsser Microbiología* (2ª Ed) Buenos Aires, Ed. Panamericana, p. 221-283.

16- Farell DJ, Morrissey I, Bakker S, Felmingham D. (2002) Molecular characterization of macrolide resistance mechanisms among *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pyogenes* isolated from the PROTEKT 1999-2000 study. *J Antimicrob Chemother.* 50, S1:39-47.

17- Weisblum B. (1995) Erythromycin resistance by ribosome modification. *Antimicrob Agents Chemother.* 39:577-585.

18- Vester B, Douthwaite S. (2001) Macrolide resistance conferred by base substitutions in 23S rRNA. *Antimicrob Agents Chemother.* 45:1-12.

19- Farell DJ, Douthwaite S, Morrissey I, Bakker S, Poehlsgaard J, Jakobsen L, Felmingham D. (2003) Macrolide resistance by ribosomal mutation in clinical isolate of *Streptococcus pneumoniae* from the PROTEKT 1999-2000 study. *Antimicrob Agents Chemother.* 47:1777-1783.

20- Biskri AL, Mazel D. (2003) Erythromycin esterase gene *ere(A)* is located in a functional gene cassette in an unusual class 2 integron. *Antimicrob Agents Chemother.* 47:3326-3331.

21- Wondrack L, Massa M, Yang BV, Sutcliffe J. (1996) Clinical strain of *Staphylococcus aureus* inactivates and causes efflux of macrolides. *Antimicrob Agents Chemother.* 40: 992-998.

22- Van Bambeke F, Glupczynski Y, Plesiat P, Peche JC, Tulkens PM. (2003) Antibiotic efflux pumps in prokaryotic cells: occurrence, impact on resistance and strategies for the future of antimicrobial therapy. *J Antimicrob Chemother.* 51:1055-1065.

23- Andes D, Craig W. (1998) Pharmacokinetics and pharmacodynamics of outpatient intravenous antimicrobial therapy. *Infect Dis Clin North Am.* 112:849-860.

24- Van Bambeke F, Tulkens PM. (2001) Macrolides: pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Int. J Antimicrob Agents.* 18 Suppl 1:S17-S23.

25- Novelli A, Fallan S, Cassette MI, Arrigucci S, Mazzei T. (2002) In vivo pharmacodynamic evaluation of clarithromycin in comparison to erythromycin. *J Chemother.* 14:584-590.

26- Mazzei T, Novelli A. (1999) How macrolide pharmacodynamics affect bacterial killing. *Infect Med.*

16:22-28.

27- Mestorino, N. (2003) Uso racional de antimicrobianos en animales de compañía. X Jornadas Latinoamericanas de fármaco-toxicología veterinarias. UNLP. La Plata, Buenos Aires, Argentina.

28- Craig WA. (1997). Postantibiotic effects and the dosing of macrolides, azalides, and streptogramins. In: Zinner SH, Young LS, Acar JF, Neu HC (eds): *Expanding indications for the new macrolides, azalides, and streptogramins.* New York, Ed. Marcel Dekker, p. 27-38.

29- Labro MT. (1998) Anti-inflammatory activity of macrolides: a new therapeutic potential?. *J Antimicrob Chemother.* 41, SB:37-46.

## **ANALECTA VETERINARIA Vol 27 n° 1, 2007**

### **Artículos de Investigación Research articles**

**METÁSTASIS Y ANGIOGÉNESIS EN CARCINOMAS MAMARIOS INVASIVOS DE PERRAS DIAGNOSTICADOS ENTRE 1980 Y 2003. ESTUDIOS HISTOLÓGICO E INMUNOHISTOQUÍMICO.** Metastasis and angiogenesis in canine invasive mammary carcinomas diagnosed between 1980 and 2003. Histologic and immunohistochemical studies. ME Diessler, JR Idiart, EL Portiansky

**TAMAÑO Y ESTRUCTURA DE LA POBLACIÓN CANINA EN SAN MARTÍN DE LOS ANDES (NEUQUÉN).** Size and structure of the dog population in San Martín de los Andes (Neuquén). Brusoni C, Dezzotti A, Fernández Canigia J, Lara J

**MEDICIÓN ULTRASONOGRÁFICA DE ESTRUCTURAS MATERNAS Y FETALES PARA LA ESTIMACIÓN DE EDAD GESTACIONAL EN CANINOS.** Ultrasound measurements of maternal and fetal structures for estimation of gestational age in dogs. Rodríguez R, Tortora M, Blanco P, Pons E, Rube A, Corrada Y, Gobello C, Arias D.

### **Comunicaciones breves Short communications**

**EVALUACIÓN DE UN SISTEMA DE AISLADORES FLEXIBLES PARA EL MANTENIMIENTO DE RATONES INMUNODEFICIENTES.** Validation and assessment of a flexible film isolator system for the maintenance of immunodeficient mice. F Maschi, G Principi, S Milocco, JM Laborde, M Carriquiriborde, MAyala, P Cagliada, Carbone C.

### **Revisiones Review**

**MACRÓLIDOS: NOVEDADES DE UN CLÁSICO GRUPO DE ANTIMICROBIANOS**  
Macrolides: news about a classic group of antimicrobials. MF Lucas, N Mestorino, JO Errecalde

Dirección postal: Revista Analecta Veterinaria, CC 296 (B1900AVW)  
La Plata, Buenos Aires, ARGENTINA

Se solicita canje - On demande l'échange - We ask for exchange - Si prega lo scambio  
Man bitter um austauch - Pedese permuta -Oni petas intersangon